

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de CC. Morfológicas II



**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LAS RELACIONES
ÓPTICAS DEL SEGUNDO ARCO BRANQUIAL**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR POR Ignacio Corral Pazos de Provens**

Bajo la dirección de los Doctores:
José Francisco Rodríguez Vázquez
José Ramón Mérida Velasco

Madrid, 2001

ISBN: 84-669-2059-5

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO

DE LAS RELACIONES ÓTICAS

DEL SEGUNDO ARCO BRANQUIAL

*Trabajo de investigación base de Tesis Doctoral,
presentado por*

Ldo. IGNACIO CORRAL PAZOS DE PROVENS

Directores: *Prof. José Francisco Rodríguez Vázquez*

Prof. José Ramón Mérida Velasco

Departamento de Ciencias Morfológicas II

Universidad Complutense

Madrid, 2001

ÍNDICE

| | |
|--------------------|----------|
| Introducción | Pág. 1 |
| Material y métodos | Pág. 50 |
| Resultados | Pág. 55 |
| Discusión | Pág. 141 |
| Conclusiones | Pág. 158 |
| Bibliografía | Pág. 161 |

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Las primeras descripciones del segundo arco branquial se deben a Burdach, 1837, al que denominó arco estilohioideo (Griffelzungebeinbogen). El proceso estilohioideo durante la vida intrauterina es cartilaginoso, sale de la cavidad timpánica por debajo de la conexión del incus con el stapes, entre el peñasco y la apófisis mastoides y se continua a través de una estructura semejante a un ligamento con el arco hioideo, formado por cinco cartílagos diferentes. En cuanto al estribo, Burdach, en realidad hizo referencia a las observaciones de Rathke y Valentín: “según Rathke y Valentín un nódulo sobresale de la pared posterior de la cavidad timpánica del que se desarrolla el cartilago de Meckel, así como el malleus e incus. Un segundo nódulo emerge (que parece un crecimiento del laberinto) y de él se forma el stapes que constituye una articulación con el incus al converger con el primer nódulo”. Por tanto parece ser, según estos párrafos, que no fue Burdach el primero en mantener el origen laberíntico del stapes, sino que en todo caso aceptó las conclusiones de Rathke y Valentín.

Rathke, 1832 modificó la visión de sus predecesores. Para él, el incus y el malleus derivaban la pared posterior de la cavidad timpánica, mientras que el estribo lo hacía de una protusión o crecimiento lateral del laberinto. Esta

concepción fue recogida favorablemente por Valentín, 1835, que estudio embriones de distintas especies.

Karl Bogislaus Reichert, 1837, fue el primer investigador que dio la denominación de arcos viscerales, así como en atribuir al stapes un origen exclusivo a partir del segundo arco. Describió una formación aislada, posiblemente se refería al interhial, que separaba el stapes de la segunda barra cartilaginosa. La primera barra dará lugar al incus y al malleus. Reichert llegó a decir que de la “sustancia” aislada que separaba el stapes de la porción hioidea de la segunda barra visceral se desarrollaba el músculo del estribo. Si bien los trabajos de Reichert basados sobre aves, anfibios y mamíferos, tuvieron una extraordinaria influencia durante el siglo XIX. Fueron difundidos durante 40 años en los libros de texto de Alemania, adquiriendo una gran reputación y autoridad que eliminó cualquier duda a sus interpretaciones. Günther, 1842, fue la excepción, mediante una lupa estudió los huesecillos en embriones humanos y de oveja, llegando a una conclusión diferente con respecto al origen del stapes. Para Günther, tanto el estribo como la apófisis larga del yunque derivan de una protusión de la porción media de la primera barra visceral.

Los primeros investigadores que se opusieron a la teoría de Reichert no fueron alemanes sino franceses. Magitot y Robin, 1862, aun reconociendo las aportaciones y contribuciones que hizo Reichert aunque estuvieron de

acuerdo sobre el origen del cartilago de Meckel del primer arco, para ellos sin embargo, el incus y el stapes presentaban un origen independiente. Esta teoría del “origen independiente” no branquial, era nueva: “cerca de las porciones cartilaginosas del malleus, crece en contacto con estos por desarrollo independiente los cartílagos, cuya osificación determina la formación de los huesecillos del oído medio...”

Parker, 1874, efectuó un estudio sobre embriones de cerdo de 16 mm. de longitud a 6 meses de edad postnatal. Describió como el malleus y el incus se originaban de los cartílagos mandibular e hioideo, respectivamente. El stapes se formaba de tres relieves de la superficie externa del laberinto, que al separarse de la pared quedaban los restos como un tapón a nivel de la futura ventana vestibular.

El centro de la investigación retornó a Alemania a finales de los años 1870, cuando Gruber, 1877, modificó y amplió la teoría de Parker. Después de estudiar un gran número de embriones humanos y de otros mamíferos concluyó que el stapes se originaba de la cápsula laberíntica: “como resultado de mi investigación considero que el stapes, al contrario que Reichert y sus partidarios, no deriva del segundo arco visceral; sino de la misma masa formativa (Bildungsmasse) que desarrolla la cápsula laberíntica. En una primera fase aparece sobre la pared lateral de la cápsula como un pequeño cono dirigido hacia la cavidad timpánica...”.

En 1880, Salensky, basándose únicamente en material mamífero (oveja y cerdo), rebatió la anterior teoría, siendo uno de los primeros investigadores que determinó que la arteria “mandibular” (arteria estapedia) tiene un importante papel en el desarrollo del estribo: “en el desarrollo del malleus e incus solamente participa el primer arco branquial. El segundo arco branquial contrariamente a la opinión de Parker no participa en este desarrollo. En una temprana fase del desarrollo, la parte posterior del primer arco se separa de él y forma el anlage del incus, mientras que la porción anterior restante constituye el anlage del malleus y cartílago de Meckel... El stapes se forma independientemente de los otros huesecillos, como un acúmulo de células alrededor de la arteria mandibular, adquiriendo después una forma trapezoidal, pentagonal y finalmente de campanilla... El curso que tiene la arteria mandibular y el precoz desarrollo del stapes en la proximidad de la arteria tiene una influencia importante en la forma del anlage stapedia. La arteria causa la perforación del stapes y también la ranura de la crus anterior ...”.

Dos años más tarde, Fraser, 1882, en parte de acuerdo con Salensky, sostuvo que el stapes se desarrollaba como un anillo de células alrededor de la arteria. El incus correspondía a la extremidad proximal del segundo arco. Además destacó la relación que tenía el nervio cuerda del tímpano, al determinar una división entre los huesecillos. Aunque Fraser estudió una

completa serie de embriones de mamíferos, los únicos embriones humanos por él observados, fueron de 10 y 40 milímetros.

Carl Rabl, 1887, ofreció una interpretación similar a la de Reichert : “El stapes se origina del arco hioideo. Deriva del extremo proximal del blastema del cartilago de Reichert. Se entiende que el músculo que mueve este hueso está innervado por el nervio del hueso hioides, es decir el facial... Malleus e incus se desarrollan del primer arco y el stapes del segundo. Por consiguiente, el músculo del martillo estará innervado por el nervio trigémino y el músculo del estribo por el facial”.

La teoría de Rabl sobre el origen del estribo es una de las más conocidas de la literatura, si bien en el mismo periodo se emitió otra teoría, también muy popular. A finales de los años 1880, varios investigadores se preguntaron si las diversas teorías sobre el stapes podrían realizarse. Von Noorden, alemán y Gradenigo, italiano, propusieron en 1887, un origen doble para el estribo. En opinión de Von Noorden, en el peñasco del embrión de 18.5 mm., sobre la pared anterior del laberinto, existía una protusión de su pared. Por otro lado la arteria estapedial agujereaba un pequeño acúmulo redondeado de cartilago que no tenía ninguna relación con el cartilago de Meckel ni con el del laberinto, de este acúmulo celular se formaba una parte del futuro estribo, las ramas se desarrollaban total o parcialmente de este acúmulo de células. El stapes presentaba dos anlagen, intra y extramural en

relación a la vesícula ótica cartilaginosa. Gradenigo estuvo de acuerdo en líneas generales con Von Noorden sobre el origen de los huesecillos, incluso en el doble origen del estribo. En relación a este último describió que el stapes se formaba de dos elementos morfológicamente diferentes, el “annulus stapedis” procedente del segundo arco branquial, y la “lámina stapedis” originada secundariamente de la pared de la cápsula laberíntica. Gradenigo utilizó como material para su estudio fetos humanos de 40 a 170 mm. Es importante señalar que en los estudios realizados durante estos años, la falta de embriones fue una norma general que contribuyó a crear confusión sobre el origen de estas estructuras.

Un año después de los trabajos de Gradenigo y Von Noorden, Hans Friedrich Gadow, 1888, publicó un extenso trabajo sobre mamíferos, pero basado únicamente en disecciones. Gadow concluyó que todos los huesecillos debían ser considerados como un único órgano, con un origen común, el hiomandibular (el “paramero” proximal del segundo arco visceral).

En 1893, Dreyfuss, de la Universidad de Estrasburgo, revitalizó la teoría de Salensky. El martillo y yunque derivaban del extremo proximal del primer arco visceral, mientras que el estribo se formaba como una estructura independiente. En cuanto a este último Dreyfuss señaló que el anillo estapedial se observaba como un acúmulo celular concéntrico alrededor de

un pequeño vaso situado entre los extremos proximales del primer y segundo arco. El estribo se formaba íntegramente a partir del anillo estapedial. La lámina cartilaginosa primaria existente a nivel de la ventana oval era una formación transitoria sin relación alguna con la base del futuro estribo. En cuanto al proceso lenticular del incus, observó que no era una estructura independiente sino que correspondía a la parte más externa o exterior de la apófisis larga del incus desarrollada en último lugar.

La línea de pensamiento según la cual el stapes posee un origen independiente fue continuada en 1894 por Siebenmann y reiterada por el mismo en 1897. No solo el estribo sino también el yunque y el martillo se formaban simultánea e independientemente con los cartílagos de Meckel y Reichert. Según Siebenmann, el lugar de formación del stapes estaba localizado donde terminaba la pared dorsal de la primera bolsa faríngea, que estaba en continuidad con el blastema donde se continúan el primer y segundo arcos. El blastema stapelial se disponía inicialmente claramente separado del blastema de la cápsula laberíntica. Observó como la conexión entre el stapes y la barra precartilaginosa del Reichert se realizaba por medio de un precartilago que seguía el trayecto del nervio facial. Este autor tuvo la certeza de que la cara del anillo estapedial orientada al laberinto correspondería a la futura base y por consiguiente consideró que el estribo no tenía un doble origen. Según este autor los precartilagos de Meckel, Reichert así como los del malleus, incus y stapes, aparecen

simultáneamente, como las partes de un esqueleto separadas a manera de cadena. Los extremos de la cadena corresponden a los dos arcos, siendo los eslabones medios independientes de los extremos de dicha cadena.

Hans Baumgarten, 1892, en referencia al origen del malleus e incus estuvo de acuerdo con Reichert. Al stapes le atribuyo, así mismo un origen único a partir del arco hioideo.

Max Zondek, 1894, fue de la misma opinión que Baumgarten. La masa formativa (Bildungsmasse) del arco hioideo se encuentra en continuidad con el anlage del anillo estapedial. El cordón celular que conectaba ambas estructuras regresa, para desaparecer en embriones de 35 mm. completamente. Al anillo estapedial, lo describió como masa formativa adyacente al segmento de la pared laberíntica, que se vuelve precartilaginoso transformándose después en tejido conectivo.

Hegetschweiler, 1898, esencialmente estuvo de acuerdo con Baumgarten y Zondek sobre el origen del estribo. Según él, el stapes se forma como un acúmulo celular redondeado precartilaginoso entre la pared del laberinto y el nervio facial, representando el extremo del arco hioideo. La pared del laberinto no entra en su constitución. El stapes según este autor constituye una estructura anillada alrededor de la arteria stapedia, de manera que el arco medial se funde con la membrana de la ventana oval para

transformarse en su base, mientras que el arco lateral lo hace en las ramas y cabeza del mismo. Sin embargo para Hegetschweiler el cordón celular del que habló Zondek no experimentaba regresión.

Al final del siglo XIX, Ivar Broman publicó una extensa monografía sobre la embriología de los huesecillos en el hombre, siendo uno de los más excelsos trabajos realizados en este campo (Strickland y cols., 1962). Para ello Broman utilizó 30 embriones y fetos humanos, estudiados desde los 8.3 mm. de longitud. En las observaciones realizadas durante las primeras fases del desarrollo, Broman llegó a la conclusión de que los huesecillos en su fase primordial se encontraban en conexión directa y que el estribo era un derivado del segundo arco. Con respecto al primer y segundo arco opina que se están separados por sus respectivos nervios, trigémino y facial, en las partes lateral y medial.

El término *interhial* fue usado por Broman, 1899, para describir la primitiva conexión existente entre el stapes y la segunda barra visceral. Consideró que el stapes se originaba del segundo arco por mediación de esta conexión (*interhial*). El *interhial*, según él, era solamente un mesénquima transitorio que aparecía en embriones de 16 mm., y regresaba como consecuencia de la influencia constrictiva del nervio facial desapareciendo en embriones de 40 mm., para perder su conexión con el arco hioideo. Para Broman el músculo del estribo se formaba entre los 40 y los 55 mm., en el mismo lugar donde el

interhial desapareció. Para Broman, al final del tercer mes, la forma anular original del stapes empezaba a ser definitiva, probablemente como resultado de la presión intralaberíntica. Así mismo la lámina precartilaginosa de la fenestra oval experimentaba una atrofia casi completa, persistiendo como un delgado pericondrio a nivel de la base del estribo. Broman observó con claridad que tanto el incus como el malleus se formaban de la primera barra visceral. El malleus de la parte media de su porción posterior, mientras que el incus lo hacía de la más lateral.

Un año más tarde el americano John Sterling Kingsley, 1900, usando como material embriones de cerdo y mediante secciones seriadas, disecciones y reconstrucciones por el método de Born, llegó a la conclusión de que el stapes se desarrollaba del extremo proximal del arco hioideo, aunque perdía la conexión con él cuando se formaba el cartílago. El martillo presentaba un origen compuesto, el cuerpo derivaba del extremo proximal del cartílago de Meckel, el manubrio lo hacía de un cartílago intermedio situado entre los arcos hioideo y mandibular, y una parte del proceso anterior de un hueso de membrana. El incus se formaba a partir del estroma del arco mandibular, de tal manera que al alcanzar la fase cartilaginosa constituía un proceso ascendente para articularse con la cápsula ótica y un proceso stapelial para articularse con el estribo. Por otra parte, Kingsley determinó la homología de los huesecillos del oído medio con el cuadrado, articular y columela de los vertebrados inferiores.

En 1905, Hugo Fuchs resaltó la importancia de que los estudios debían realizarse durante el periodo en el que los elementos osiculares estaban todavía en fase mesenquimal. Concluyó que el primer anlage del malleus e incus aparece en la porción dorsal del área del primer arco y que el stapes en los primeros estadios era continuo con la cápsula auditiva. Consideró de una manera absoluta que no había conexión primaria ni ninguna relación ontogénica entre el anlage del stapes y el cartílago del hioides. Para este autor, si existiese alguna relación, ésta acontecía más tarde, durante el desarrollo de los anlages y por tanto solo puede tratarse de una relación secundaria. El hecho de que el primer anlage estapedial este localizado medialmente a la sección de la bolsa visceral, en el llamado área paralaberintica, demuestra según Fuchs de una manera irrefutable que el estribo no se origina en el área de un arco visceral y menos aún del área del arco hioideo, pertenece topográficamente al anlage de la cápsula periótica. Por tanto el primer anlage estapedial, en base a sus relaciones topográficas, así como los cambios histológicos que tiene durante su diferenciación, deriva íntegramente de la cápsula del laberinto. Para Fuchs, 1905, el anlage del estribo pertenece genéticamente a la cápsula laberintica de hecho ambos anlages en su estado precartilaginoso o de condroblastema están en conexión durante un cierto tiempo, relativamente largo, a través de una delgada capa fibrosa de blastema denso. El anlage precartilaginoso del estribo está conectado con el anlage precartilaginoso de la segunda barra

visceral durante el desarrollo. Esta conexión se realiza por mediación del anlage de un ligamento embrionario, que este autor denominó como ligamento hioestapedial (ligamentum hyostapediale), ligamento que desaparece durante la vida embrionaria. El estribo se forma totalmente del llamado *annulus stapedis*, y por tanto consideró que no tiene un doble origen.

En 1911, Rudolph Eschweiler, suscitó la teoría del origen independiente del estribo. Para este autor, un acúmulo celular redondeado y estratificado en capas corresponde al anlage del estribo, ya que un vaso, la arteria estapedial lo perforaba en su parte central. El anlage del stapes lo ubica entre el extremo de la hendidura branquial y los blastemas del segundo arco por un lado y el laberinto por otro y se encuentra separado del blastema periótico y del blastema que cubre al nervio facial a través de una zona intermedia laxa. Según este autor no hay ninguna evidencia de que no exista un anlage independiente para la base. En la serie estudiada por él no observó una separación del anlage stapelial a partir del blastema periótico. Después observó una aproximación del blastema del Reichert al stapes, pero esta solo era secundaria y temporal, existiendo siempre un desarrollo independiente del estribo. Consideró al músculo del estribo como derivado del segundo arco y su anlage al inicio no tenía relación con el estribo, solo secundariamente conecta con el. Según este autor si fueran un derivado del segundo arco branquial, los dos habrían tenido un origen común en su fase

primitiva. Para Eschweiler la inervación del músculo por el nervio facial, no es una prueba del origen del stapes a partir del arco hioideo.

Un año antes Kallius, 1910, publicó un trabajo sobre el desarrollo de la lengua en el cerdo, en el que también hizo referencia al desarrollo de los huesecillos. Observó dos pequeños procesos diferenciados en el extremo proximal del segundo arco visceral cartilaginoso, el que estaba dirigido hacia la cápsula en base a su relación con la arteria estapedia, lo consideró como el anlage del estribo.

En 1911, John W. Jenkinson, usando embriones de ratón desde los 5.6 mm., apoyó la teoría de que el estribo derivaba de la porción medio dorsal del arco hioideo. El blastema, separado de la cápsula auditiva, pero continuo con el blastema hioideo, tomaba forma redondeada cuando la arteria lo perfora centralmente. La primitiva conexión entre el stapes y la barra hioidea desaparecía cuando se iniciaba la condricificación del malleus. Secundariamente el stapes conectaba y quedaba incluido en la cápsula auditiva (la lámina estapedial que contribuye a la base estapedial).

En 1928, Schmid, en un artículo dedicado a la embriología del stapes, en embriones humanos de 37 a 112 mm., escribió que el origen de este hueso era doble. Creyó que el anillo estapedial forma parte de la base, la totalidad de las ramas y la cabeza, mientras que la porción principal de la base y el

ligamentum anulare basis stapedis se originan a partir de la cápsula laberíntica.

Schimert, 1933, describió el origen y desarrollo del músculo del estribo en embriones humanos. Encontró el anlage del músculo en el embrión de 13.5 mm., de tal manera que a los 18 mm., era un blastema muscular independiente. El músculo del estribo, al igual que vientre posterior del músculo digástrico y estilohioideo, consideró que se formaban del blastema muscular. Incluso en las fases más precoces observó que se encontraba inervado por una rama independiente del nervio facial. Schimert mencionó la conexión blastemática existente entre el cartilago de Reichert y el primordium stapediale, pero puntualizó que el interhial podría confundirse fácilmente con el primordio del músculo del estribo.

En 1942, Cauldwell y Anson, en el estudio realizado en embriones humanos de 6.7 a 50 mm., concluyeron que el stapes humano tiene dos fuentes de origen: el segundo arco visceral (hioideo) y la pared capsular lateral. Consideraron que el origen de la barra visceral era primario, y que la fusión del annulus con la lamina stapedis y la diferenciación del tejido laminar es de naturaleza secundaria.

Según Cauldwell y Anson, 1942 y cols. 1956, en embriones de 30 mm., la lamina stapediale es como una capa compacta muy teñida, si bien el

primordio surge a los 25 mm. Estos investigadores denominaron lamina stapedialis primordial, al puente de precartilago tendido entre la coclea y la porción canalicular de la cápsula, que separa el stapes de la cavidad ótica laberíntica. En los embriones de 30 milímetros este puente, intensamente teñido y formado por dos zonas celulares, se hacía más delgado. La capa externa poco teñida está en aposición al pericondrio basal del primitivo estribo, mientras que la capa interna de tejido fibroblástico cruza la futura fenestra vestibuli.

En síntesis para Cauldwell y Anson, 1942, el estribo tiene dos orígenes:

- a) Del cartílago de Reichert, se constituye el annulus stapedialis que forma la gran masa del estribo.
- b) De la pared lateral de la cápsula ótica, se constituye la lámina stapedialis, que forma el pericondrio basal, la superficie vestibular de la lámina, el margen o borde estapedial y ligamento anular.

Al igual que Cauldwell y Anson, 1942, Masuda y cols., 1978, también observaron el primordio de la lámina como una condensación de células mesenquimales alrededor del esbozo del stapes.

Según Cauldwell y Anson, la futura fenestra vestibuli aparece a los 43 mm., diferenciándose durante este tiempo, y desde las porciones marginales la lamina estapedialis a ligamento anular. Durante este proceso, el tejido

cartilaginoso experimentaba una desdiferenciación desde el ligamento anular y borde stapelial. A los 50 mm., la fenestra vestibuli se encontraba completamente constituida con el ligamento y el margen.

Altmann, 1950, estuvo de acuerdo con Broman al señalar que en el embrión de 16 mm. se distinguen dos focos de precartilago visibles en el primer arco, uno para el cuerpo y proceso corto del incus y otro para la cabeza del malleus y cartilago de Meckel. Aceptó la interpretación de Cauldwell y Anson de que el anlage del estribo era visible en el embrión humano de 7 mm. y que se formaba del extremo craneal de la segunda barra visceral como una masa bulbosa de mesénquima. Este autor menciona el interhial de Broman, y observó como la inserción hyostapedial desaparecía en el estadio en el que se formaban unos precursores diferentes tanto para el músculo del estribo y para su tendón.

Hanson, y cols., publicaron un interesante trabajo en 1962 sobre el origen branquial de los huesecillos del oído medio, en embriones de 7 a 28 mm. de longitud, realizando una secuencia cronológica sobre el desarrollo de los mismos. Según estos autores, el reconocimiento más precoz del tejido precursor que da lugar a los huesecillos fue observado a las cuatro semanas y media de edad, en base a la presencia de una condensación celular en el primer y segundo arco que se diferenciaba del mesénquima circundante. El blastema del estribo o stapelial consistía en una masa lobulada en el

extremo craneal de la segunda barra visceral. Después era atravesado por la arteria estapedia, adquiriendo una forma anular con un foramen obturado.

Durante la quinta semana, el lóbulo stapelial aumenta y el profundo surco del nervio facial delimita el laterohial del resto. Para Hanson y cols., 1962, el nervio facial determina un surco en la masa blastemática del extremo proximal del segundo arco, separando una pequeña parte lateral de otra medial más ancha. La porción celular intermedia que conecta el laterohial al lóbulo stapelial, lo denominan como interhial, siendo para estos autores el primordio del tendón y músculo del estribo. Es en este estadio cuando el lóbulo stapelial se aproxima a la cápsula ótica en desarrollo. Por tanto, según ellos, el estribo no se origina de la pared de la cápsula laberíntica. Por otra parte consideraron que la arteria estapedia al no estar presente en estas fases, no tiene un papel importante en la aparición del anlage stapelial. Para ellos, la posición central de la arteria en el blastema se debe al plegamiento del lóbulo alrededor del vaso. Según estos autores, podría argumentarse que se produce por el desarrollo circunferencial de las células o como resultado de la perforación del blastema por el vaso. Su concepción, como ellos mismos explican, se encuentra apoyada, no solamente por la morfogénesis, sino también por la existencia de anomalías, como anillos estapediales incompletos que no se han reunido y que han sido observados en embriones y fetos.

Hanson y cols., 1962, observan que en los primeros estadios del desarrollo la masa blastemática cruzan el primer surco branquial conectado con el primer y segundo arco visceral. Para estos autores los primordios del malleus e incus son continuos y se extienden cruzando el surco, por lo que se originan de ambos arcos. De esta manera explican, la contribución del segundo arco branquial en la formación del malleus e incus. El nervio facial y el nervio cuerda del tímpano durante esta fase separan el primordium del malleus e incus de la segunda barra visceral (precursor del cartílago de Reichert).

Hanson y cols., 1962, observan que a los 8 mm. se producía el plegamiento del anlage stapelial alrededor de la arteria, así como una mayor separación por mediación del nervio facial del laterohial del lóbulo stapelial y la desaparición casi total del puente mesenquimal interbranquial cerca de su unión a la segunda barra visceral. A los 11.7 mm., los puentes de mesénquima interbranquial se estrechan considerablemente a nivel de la salida del nervio cuerda del tímpano del nervio facial. La porción blastemática desarrollada del segundo arco que permanecía continua con la condensación de células mesenquimales del primero, la identifican como correspondiente al primordio del crus longum del incus y del manubrium del malleus, que se han separado totalmente de la segunda barra visceral, diferenciadas parcialmente por una ranura formada por el nervio cuerda del tímpano. Las células mesenquimales que contribuyen a la formación del anlage del manubrium y crus longum proceden del segundo arco branquial.

A pesar de su rápido aislamiento de las estructuras del segundo arco, el origen de estos dos elementos es atribuido por Hanson y cols., 1962, al segundo arco branquial, refutando de esta manera el origen íntegro atribuido al primer arco.

En la sexta semana observaron la constitución del anillo stapedia con un foramen obturador completo, por el al plegarse el lóbulo stapedia alrededor de la arteria stapedia. Por otro lado el crus longum se dirigía hacia el anillo stapedia, para unirse con la futura cabeza del stapes y establecerse de esta manera una continuidad secundaria entre las estructuras del primer y segundo arcos branquiales. En esta fase, aunque los huesecillos están constituidos por mesénquima, empiezan a adoptar una morfología reconocible. El interhial ha regresado de tamaño, según Hanson y cols., debido a la presión ejercida por el nervio facial. Todavía esta estructura persistirá temporalmente como una conexión mesenquimal bastante densa entre el estribo y la segunda barra visceral. El laterohial en estas fases es como una extensión proximal de la segunda barra visceral más allá de la bifurcación del interhial a manera de una prominencia. El anillo stapedia se aproxima al anlage de la cápsula ótica, y el laterohial se encuentra a distancia de su futura ubicación, en el borde inferolateral de la cápsula ótica en desarrollo.

En el embrión de 15.5 mm., observaron la diferenciación de las células precartilaginosas a nivel de las porciones distales de la primera y segunda barras viscerales (primordios de los cartílagos de Meckel y Reichert).

A los 17 mm., séptima semana, el interhial es muy estrecho conectando la segunda barra branquial con el stapes, y con el nervio facial situado entre ambos. El interhial sigue manteniendo su estructura mesenquimal, y de este se desarrollará según Hanson y cols., 1962, el tendón del músculo del estribo y en un estadio más tardío posiblemente de lugar al músculo. Durante la séptima semana describieron la condricificación de los extremos distales de la primera y segunda barra branquial y como el malleus e incus se encontraban separados por una banda de mesénquima diferenciado. El estribo, según ellos, es el último en experimentar este cambio celular, de tal manera que el anillo stapelial se encuentra bien formado por un mesénquima denso, y próximo a la cápsula ótica por el crecimiento de ambos. Estos autores consideran que el anillo al presionar sobre la cápsula, determina que las células capsulares se diferencien en esta área y se condensan para formar la lámina stapedis que contribuirá a la formación de la base y ligamento anular. La fusión se realizará cuando tanto el anillo como la cápsula sean cartílagos maduros.

Observaron como las células mesenquimales del crus largo del incus, anillo stapelial e interhial se confundían. En un 15% de los especímenes normales

vieron que el músculo stapelial presentaba una inserción tendinosa sobre el incus, en lo que se basaron para apoyar la teoría de que el stapes y parte del incus tienen un origen común en el segundo arco visceral. Según Cauldwell y Anson, 1942 el “os lentiformis” se origina del tejido mesenquimal adyacente al stapes y aparentemente separado del incus por una estrecha zona de tejido. Para Hanson y cols., 1962, existe una continuidad incudostapelial.

Hasta estos años los diferentes trabajos basados en el análisis seriados de embriones humanos de la colección de la Carnegie, por Anson y Bast, 1946 y 1959; Anson y Cauldwell, 1942; Anson y cols., 1960 y Hanson y cols., 1959, permiten hacernos una idea general sobre la morfogénesis de los huesecillos del oído medio. Es a partir de estos trabajos cuando se produce una inflexión marcada por la escasa realización de estudios morfogénicos en los que se adoptan, sin previo análisis, las posiciones definidas por los autores citados. En suma, bien podríamos expresar que en la ontogénesis de los huesos del oído medio y en especial del origen y relación del estribo con el cartílago de Reichert, son muy escasos los trabajos efectuados en comparación con otras áreas u órganos del hombre, opiniones que además de exiguas son contradictorias.

Masuda y cols., 1978, retomaron el desarrollo del estribo, realizado un estudio en 35 embriones humanos comprendidos entre los 3.5 y los 105 mm.

Observaron como a los 13.5 mm., el primordium del stapes presenta inicialmente una forma de anillo con la arteria estapedia. En opinión de ellos, el estribo, la arteria estapedia y el interhial derivan del cartílago de Reichert. Durante esta fase la condensación celular mesenquimal considerada como primordio de la cápsula ótica, rodeaba la región de la lamina stapedialis del esbozo estapedial, entre estos dos tejidos, y a los 16 mm., pudieron observar una delgada estructura lineal laminar. Esta estructura laminar, relativamente clara, constituye en opinión de estos autores, el primordio de la lamina stapedialis. Es a los 19 mm., cuando el primordio stapedial se situaba sobre la cápsula ótica precartilaginosa. A los 35 mm., el stapes precartilaginoso presentaba una lamina stapedialis completamente precartilaginosa. En el espécimen de 50 mm., el estribo había completado su forma; de tal manera que la porción marginal de la lamina stapedial mostraba una degeneración a tejido celular fibroblástico, que indicaba al ligamento anular. Observaron como en la porción intermedia del margen de la lámina, las células fibrosas se multiplicaban para formar el borde estapedial. La capa más interna del vestíbulo situada en la porción central de la lamina stapedial, se transformaba para formar el pericondrio vestibular. Por fuera de esta capa y cerca de ella observaron un área clara de células cartilaginosas que interpretaron que interpretaron que derivaba de la lámina stapedialis y aún más lateralmente otra delgada capa de células fibroblásticas, que en opinión de ellos probablemente era el

pericondrio primitivo que se modificaba desde la base del annulus stapedialis.

En el estadio de 105 mm., vieron que no existía ninguna diferencia histológica entre el annulus y la lamina stapedialis. Los estribos presentaban una estructura homogénea. La porción marginal del borde stapedial se estaba transformando en ligamento anular.

Para Masuda y cols., 1978, el estribo se desarrolla a partir del cartílago de Reichert del segundo arco branquial y la cápsula ótica. Del primero deriva el annulus stapedialis en base al tejido mesenquimal y su transformación a cartílago y del segundo lo hace la lamina stapedialis por el tejido mesenquimal que pasa a precartilaginoso y cartilaginoso, y en parte se diferencia a tejido fibroso.

Los diversos trabajos que siguieron se caracterizaron por un permanente desacuerdo sobre la intervención de los dos primeros cartílagos branquiales en la ontogenesis osicular. Los trabajos de Jaskoll y cols., 1978 y 1980, permitieron comparar el desarrollo del oído medio del pollo y ratón y definir los diferentes estadios del desarrollo del stapes aviar (columela). En base a ellos se han utilizado el pollo y ratón como material base para técnicas de investigación experimentales y de cultivos, en orden a establece las posibles interacciones que acontecen durante la morfogénesis.

El oído interno, en vías de desarrollo, tiene un componente epitelial (otocisto) y otro mesenquimal. La alteración del componente mesenquimal ejerce un profundo efecto en la morfogénesis de todo el laberinto membranoso tanto en los mamíferos como en las aves. Incluso un defecto localizado en el futuro área del receptor auditivo alterará la formación del conducto coclear (Li y McPhee, 1977). Se han propuesto interacciones reciprocas, entre los tejidos del otocisto y del mesénquima periótico circundante, para el desarrollo de los laberintos membranosos y óseos. Reconociéndose que el otocisto juega un papel fundamental para el desarrollo de la cápsula ótica. La ablación del otocisto en embriones de anfibios y aves, han demostrado claramente que en su ausencia, no hay ninguna formación de laberinto óseo (Kaan, 1930; Reagan, 1917). Los estudios de Van De Water, 1987, demostraron que durante la formación capsular ótica, el otocisto por medio de las interacciones epitelio-mesenquimales, ejerce diversas influencias inductivas sobre el desarrollo capsular:

- Antes del día 11 del periodo embrionario, el otocisto solo no es suficiente para iniciar la condrogénesis de la cápsula ótica en los explantes de otocisto/mesénquima.
- El otocisto, actúa como un inductor de la condrogénesis de la cápsula ótica en los explantes otocisto/mesénquima entre los días 11 a 13.

- La determinación del fenotipo condrogénico está completo en los explantes aislados de mesénquima periótico obtenidos en los embriones de 13 días de gestación.
- La morfología organotípica del cartilago de la cápsula ótica está determinada en el día 14 de gestación y es expresada y se expresa en los explantes de mesénquima de este grupo de edad.
- El otocisto parece no solo actuar como un inductor de la condrogénesis en el mesénquima, sino también como un inhibidor de la expresión condrogénica durante la formación de los espacios perilinfáticos.
- El proceso de inducción de la cápsula ótica por el otocisto (epitelio) al mesénquima es un proceso escalonado que requiere la interacción continua entre estos dos tipos de tejidos.

Tamura y cols., 1993, estudiaron el desarrollo de oídos fetales explantados en cultivos de órgano, para ello utilizaron ratones de 13 días a los que se mantuvieron durante 48, llegando a desarrollar algunos de los huesecillos. Observaron al igual que Masuda y cols., 1987, como el stapes de forma esférica adquiría una anular Sin embargo, estos autores no vieron la arteria estapedial. Aunque esta arteria puede influir en la configuración del estribo (Matamura, 1981), Tamura y cols., 1993, consideraron esta posibilidad muy remota. Si bien ellos mismos dicen que la explantación de los ratones de 13 días para su cultivo es una fase muy tardía para la morfogénesis estapedial, y

por ello debiera haber sido realizada antes, para comprobar la influencia de la arteria estapedial en la morfología del estribo.

Estudiando el desarrollo de los huesecillos del embrión de ratón *in situ* (Louryan, 1986, 1988), *in vitro* (Louryan, 1986, 1988) y en condiciones teratológicas (Louryan y cols., 1990, 1992; Louryan y Glineur, 1992), estos autores pudieron precisar ciertos datos sobre el desarrollo oscular. En el estudio efectuado por Louryan, 1988, en el embrión de ratón, señaló que al contrario que la morfogénesis de la cápsula ótica ha sido objeto de estudios detallados en la mayoría de las especies de vertebrados, incluyendo el ratón (Benoit, 1960; Mc Phee y Van de Water, 1985; D'Amico-Martel y cols., 1987), el desarrollo de los huesecillos del oído medio ha tenido escasa atención por los embriólogos. Louryan, 1988, corroboró la teoría propuesta por Hanson y cols., 1962, según la cual la cabeza del martillo y el cuerpo del yunque derivarían del cartílago del primer arco branquial, cartílago de Meckel, mientras que el mango del martillo, apófisis larga del yunque y estribo tendrían su origen de la extremidad cefálica del cartílago de Reichert. En el estudio realizado sobre la condrogénesis en el ratón mediante procedimientos histoquímicos, observaron que ésta aparece a los 12 y 13 días en la extremidad proximal del cartílago de Meckel asimismo en la porción media del cartílago de Reichert. A los 14 días, en el cuerpo y apófisis larga del yunque, en el estribo, mango del martillo y parte proximal del cartílago de Reichert. A los 16 días, la diferenciación cartilaginosa se

encuentra uniformemente repartida. La observación de esta cronología determina en opinión de ellos, la coexistencia de dos frentes de condrogénesis, que progresan a partir de los primeros arcos branquiales. La cabeza del martillo y el cuerpo del yunque, morfológicamente ligados al cartílagos de Meckel, mostraron signos de diferenciación más precoces que los componentes más caudales de la cadena osicular como son la parte inferior del mango del martillo, apófisis larga del yunque y estribo. Destacaron que el cartílago de Meckel es la primera estructura en manifestar una colorabilidad de la matriz extracelular, mientras que desde el punto de vista morfológico era el cartílago de Reichert el primero en aparecer bajo la forma de un blastema condensado (Louryan, 1986). Según Louryan, 1988, la confrontación de los datos morfológicos e histoquímicos permitieron distinguir cuatro estadios consecutivos en la diferenciación cartilaginosa:

Estadio I. Condensación de mesoblasto indiferenciado (10.5 a 11.5 días).

Estadio II. Modelado de los blastemas condensados (11.5 a 13 días).

Estadio III. Condrificación de los esbozos (13 a 16 días).

Estadio IV. Crecimiento y osificación de los cartílagos (16 días).

Estos datos fueron comparados con los de Mac Phee y Van de Water, 1985, a propósito de la condrogénesis de la cápsula ótica:

I. Precondrogéneo (9 a 11 días)

- II. Agregación (10. 5 a 12 días)
- III. Metacromasia (12 a 13 días)
- IV. Condrogénesis inicial (13 a 14. 5)
- V. Condrogénesis tardía (> de 14. 5 días)

Según Louryan, 1988, si se agrupan los estadios IV y V cuyas diferencias son también subjetivas, podría observarse un paralelismo entre las dos cronologías, la de los huesecillos y cápsula ótica. Para este autor, los datos histoquímicos corroboran los morfológicos, en particular sobre que cada esbozo osicular presentaba una morfogénesis compleja como si no se tratara en realidad de un esbozo único, sino de un conjunto de esbozos. El carácter heterogéneo del proceso de condricificación parece corroborar esta forma.

Los estudios efectuados por Ars, 1989, en fetos humanos no aportan ninguna innovación sobre la embriología osicular. Dice que derivan del mesénquima del primer y segundo arco branquial. La cabeza y cuello del martillo así como el cuerpo del yunque se forman del primer arco, mientras que el segundo arco da lugar al manubrio del martillo, proceso largo del incus y a la mayor parte del stapes. La base de éste tiene un origen dual, en parte del segundo arco y en parte de la cápsula ótica.

Según Louryan, 1993, las primeras condensaciones que indican la génesis de los esbozos osiculares se observan en el embrión de 9 mm (observaciones

análogas a las que aparecen en el embrión de ratón de 11 a 12 días). Una condensación redondeada vecina a la cápsula ótica señalaba el esbozo estapedial. El nervio cuerda del tímpano atraviesa a un blastema oblongo indiferenciado que bordea el receso tubo timpánico y el primer surco branquial. El conjunto de los esbozos se encontraban en continuidad sin distinguirse ningún otro blastema. En el embrión de 12 mm., la arteria estapedial fue observada en el seno del esbozo del stapes, siendo bien visible su emergencia de la carótida interna. En este estadio observó un blastema casi continuo circunscribiendo el nervio facial y la arteria estapedial, y en continuidad con el cartílago de Reichert. El precartilago de Meckel era continuo con una porción globulosa que correspondía a los esbozos de la cabeza del malleus y del cuerpo del incus. En los estadios de 13 y 13.5 mm., el esbozo estapedial permanecía en continuidad con el cartílago de Reichert por intermedio de un tracto celular relativamente fino que en opinión de Louryan era el interhial. Observó como una discreta conexión tisular unía el cartílago de Reichert con un blastema mal delimitado que estaba presente a los 12 mm., situado entre el primer surco branquial y la primera bolsa que era atravesado por el nervio cuerda del tímpano. Este blastema estaba igualmente en continuidad con el cartílago de Meckel bien individualizado. A los 14 mm., la forma de los esbozos osiculares estaba determinada. Una solución de continuidad aparecía entre el esbozo del proceso largo del incus y el cartílago de Reichert, que quedaba próximo. Se diseñaba la futura zona timpánica, comprendida entre el primer surco y la primera bolsa branquial,

englobando al esbozo del mango del martillo (aspecto que evoca la situación encontrada por este autor en el embrión de ratón de 11 días). A los 15.5 mm., el estribo estaba parcialmente encerrado por la cápsula ótica. En el embrión de 19 mm., la forma de los esbozos prefiguraba su aspecto en el adulto, fundamentalmente en lo referente al mango del martillo y al yunque. El stapes se encontraba hundido en la cápsula ótica, pero la base no estaba aún determinada. En el estadio de 27.5 mm., las características anatómicas con el recién nacido eran equiparables. Los esbozos cartilagosos de los huesecillos habían adquirido su forma definitiva incluyendo la base del stapes. Las interzonas definidas pero sin indicios de cavidades articulares; los esbozos musculares bien individualizados, en especial el del músculo del estribo que ocupaba el lugar del interhial. El nervio cuerda del tímpano separaba el proceso largo del incus del mango del martillo. Para este autor, mientras los esbozos de la cabeza del malleus y cuerpo del incus aparecen en la prolongación del cartilago de Meckel. Las partes caudales del martillo y yunque se forman en un espacio relativamente bien delimitado y situado entre el receso tubotimpánico y el primer surco branquial, como un blastema que inicialmente es único y atravesado por la cuerda del tímpano (en el embrión de ratón el esbozo del mango del martillo presentaba relaciones íntimas y precoces con el borde lateral del receso tubotimpánico, en cuya concavidad se insinuaba, Louryan 1986). Relación que estaba conservada en condiciones teratológicas, cuando el mango perdía todo contacto con el resto de la cadena osicular en el embrión de ratón expuesto a

los efectos del ácido retinoico (Louryan y cols., 1990 y 1992). Este blastema se formaba igualmente *in vitro* (Louryan, 1991), con la condición de que la presencia conjunta de los dos arcos branquiales o del arco hioideo aislado mantengan la pared externa de la primera bolsa. El hecho de que el esbozo del malleus pueda desarrollarse independientemente de todo contacto con los otros esbozos osiculares, siempre que esté asociado a la primera bolsa branquial, constituye según Louryan, 1991, una propiedad esencial de los primordios osiculares durante el desarrollo. Para este autor, la asociación del proceso largo del incus con el stapes, observado tanto *in vivo* como *in vitro*, en el ratón, así como en ciertas condiciones teratológicas, constituye un punto importante ya que según Hough, 1963, se observa a veces la inserción del músculo del estribo sobre el proceso largo del yunque.

Para Louryan, 1993, la unión transitoria que existe entre el precartilago de Reichert y el stapes es difícil observar en el ratón, debido a la fugacidad de esta conexión. El esbozo fibrilar reconocible del músculo del estribo aparece pronto, en el estadio de 13 días. Por el contrario en el embrión humano, este autor pudo observar la conexión mesenquimatosa en el estadio de 13.5 mm., en el mismo lugar que ocupará posteriormente el músculo del estribo. Por otro lado Louryan destaca la evidencia de que el estribo se desarrolla en contacto con la cápsula ótica. En los estadios más precoces, el esbozo del estribo se distingue bien y se desarrolla paralelamente al de la cápsula ótica precartilaginosa, terminando por “enclavarse” en su pared. En el ratón por

métodos histoquímicos se ha demostrado que existe una atenuación de los índices de condricificación de la cápsula ótica alrededor del estribo en vías de formación (Louryan, 1988). Según Jaskoll y Maderson, 1978, la columela se desarrolla en el pollo en los estadios 25-27 de Hamburger-Hamilton, como una condensación mesenquimal claramente aislada de la cápsula ótica, cuyas células muestran una ligera afinidad por el azul alcian. Más tarde, aparecen los primeros indicios de movimiento hacia el oído interno indicados por un estrechamiento. Como resultado de esta “emigración” se diferencia el ligamento anular, pericondrio próximo y la aparición de una población uniforme de condrocitos en la columela. En opinión de Jaskoll y Maderson, 1978, la acción mecánica parece improbable, ya que hay una banda de células no matriciales entre las dos poblaciones celulares. Ellos consideran que la población de condrocitos de la columela influye sobre la cápsula, produciendo un retardo en la producción de condroblastos por ella. Por tanto, en el pollo la característica esencial de la dinámica de las relaciones otoestapediales parece caracterizarse por la presencia de condroblastos en la porción capsular que rodea al estribo, así como en la diferenciación tardía de estos condroblastos en fibroblastos para formar el ligamento anular. Para Louryan, 1993, la presencia de un esbozo de stapes orientado a la cápsula ótica es seguramente el responsable, en condiciones normales, de la modificación de las propiedades locales celulares de aquella zona de la cápsula que está próxima al esbozo estapediano. Según Louryan y Glineur, 1992, la observación por estos autores de un estribo totalmente

completo, y a distancia de la cápsula ótica, en embriones de ratones tratados con ácido retinoico, habla en favor de la hipótesis según la cual el estribo deriva íntegramente del cartílago de Reichert. Estos autores Louryan y cols., 1992, han señalado que la administración oral de ácido retinoico en los ratones gestantes de 9 días, provocan grandes malformaciones de los huesecillos del oído medio, que se asocian a una dismorfogenesis de la esfera craneofacial que recuerda a la disostosis mandibulofacial humana. Uno de los huesecillos más afectados es el incus. El estribo presenta una malformación tipo II, se encuentra libre y frente a la cápsula ótica, pudiendo exhibir una forma columelar, de tal manera que la arteria estapedial se sitúa a distancia de él. En este sentido, han observado que el estribo se desarrolla en íntima asociación con la cápsula ótica siendo difícil de determinar la contribución de ella a la base. Ahora bien, como estos autores observaron un estribo formado completamente y sin conexión con la cápsula ótica pensaron en la hipótesis de que en la formación del estribo solo contribuye el cartílago del segundo arco, siendo la arteria estapedial al igual que señaló Hanson y cols., 1962 y el propio autor Louryan en 1991, necesaria para dar la forma anular al estribo. Para Louryan y cols., 1992, el primordio estapedial ejercería una influencia local diferenciando al primordio ótico; cualquier modificación en esta interacción, posiblemente secundaria a modificaciones espaciales, podría producir una displasia de cada estructura involucrada. Según estos autores, por analogía con las aves (Le Lièvre, 1974), los huesecillos del oído medio de los mamíferos a excepción de la base del

estribo se supone que derivan de la cresta neural cefálica (Noden, 1988) y por tanto la administración de ácido retinoico a los 9 días en los ratones preñados produce un aumento espectacular de la muerte celular en las placodas (Stern y cols., 1984) y en la cresta neural (Louryan y cols., 1990), de donde derivan las poblaciones celulares presentes en las porciones dorsales de los dos primeros arcos. Las similitudes de las embriopatías en el ratón y en el hombre en los síndromes branquiales (Poswillo, 1973; Poswillo, 1975 y Sulik y cols., 1987), es un buen modelo metodológico para explorar las neurocristopatías de los mamíferos como ha expresado Louryan, 1993. A pesar de los numerosos esfuerzos (Van De Water y cols., 1980), en el cultivo in vitro del anlage del estribo (con o sin cápsula ótica), éstos no han proporcionado según Louryan, 1993, una información consistente sobre la contribución del cartílago de Reichert y de la cápsula ótica en la ontogenia del estribo, sin embargo parece que existe un acuerdo general de que el llamado annulus stapedis deriva del cartílago de Reichert y la denominada lamina stapedis de la cápsula ótica. Usando en el ratón su modelo teratológico, Louryan y Glineur, 1992, han demostrado que la mayor parte del estribo puede desarrollarse del cartílago de Reichert, sin intervención de la cápsula ótica como hemos apuntado antes. Además según estos autores Louryan y Glineur, 1992, la relación existente entre el cartílago de Reichert y el mango del martillo que se presumía mediante el análisis morfológico en embriones normales, se ve ahora confirmada.

En el estudio de los embriones humanos, cuyo desarrollo ótico es más progresivo, Louryan, 1993, permitió observar en el estadio de 12 mm., la penetración de la arteria estapedia dentro de un esbozo estapediano globuloso, que se modelaba poco a poco alrededor de la arteria. Louryan, 1991, ha observado que en los arcos hioideos explantados de ratones, han observado sistemáticamente los esbozos estapedianos con una forma columelar, es decir desprovisto de arco y sin trazas de arteria estapedia. Estos resultados mediante análisis experimental, refuerzan y confirman la concepción de Hanson y cols., 1962, relativa al papel modelador de la arteria estapedia.

Algunos autores, como hemos señalado, han sugerido que el estribo se desarrolla de dos primordios separados, uno para la base, probablemente en relación a la cápsula ótica y otro para el anillo (Cauldwell y Anson, 1942; Hanson y cols., 1962; Mallo, 1997). En este sentido hemos de señalar las observaciones de Reagan, 1917 referentes a la ausencia de la base del estribo en experimentos realizados en embriones de ave. Parece posible además que el desarrollo correcto de cada una de las partes del estribo se realice de manera independiente, deducción apoyada por la variedad de anomalías en el ratón como resultado de la administración de diferentes agentes teratógenos (Louryan y Glineur, 1992; Takeda y cols., 1996; Mallo, 1997), así como de la inactivación de genes particulares (Martín y cols., 1995; Qiu y cols., 1995, 1997), en los que la base o el annulus se forman al parecer

perfectamente en ausencia total o parcial, el uno del otro. Además está claro que la morfogénesis del estribo sucede independientemente de cualquier interacción con el incus, ya que pueden encontrarse stapes normales en animales que presentan ausencia del proceso largo del incus (Mallo, 1997).

En las bases celulares y moleculares de los procesos morfogenéticos es donde han sido más notables los avances de los últimos años. La disponibilidad de nuevas técnicas y en particular la posibilidad de crear un ratón que contenga o lleve mutaciones específicas (Capecchi, 1989), han conducido a la identificación de varios genes esenciales para la morfogénesis de los diferentes componentes del oído medio.

Embriológicamente los componentes esqueléticos del oído medio derivan de la cresta neural craneal (Le Douarin y cols., 1993). Estas células se delaminan de la parte dorsal del tubo neural en desarrollo y emigran a los arcos branquiales y mamelón frontonasal donde contribuyen a la formación de una gran variedad de tejidos, que incluyen todos los huesos y cartílagos de la cara (Le Douarin y cols., 1993). Las células de la cresta neural que emigran proceden de dos regiones del cerebro en desarrollo, de la parte caudal del cerebro medio y rostral del cerebro posterior. El cerebro posterior en desarrollo se encuentra dividido en una serie de segmentos denominados rombómeros, que representan compartimentos del desarrollo (Lumsden y Keynes, 1989).

En base a la extrapolación de los datos obtenidos en aves basados en homologías filogenéticas, se ha establecido que los elementos del oído medio tienen un origen crestoneural, así como la región precisa del tubo neural desde al cual la cresta neural emigrada contribuye a cada uno de los elementos (Novacek, 1993).

Los estudios en embriones de aves han sido posibles debido a su accesibilidad para las manipulaciones, incluyendo diferentes tipos de injertos (Noden, 1984), que evidentemente no son posible en embriones de mamíferos. Sin embargo, aún cuando no se puede estar absolutamente seguros sobre la exactitud de esta extrapolación evolutiva, especialmente en los detalles, algunos datos experimentales sugieren que en gran medida pueden ser válidos. En los experimentos realizados en ratones se han encontrado variedades de malformaciones por defectos de la cresta neural (Webster y cols., 1986; Pratt y cols., 1987; Mallo, 1997), que indican como estas células contribuyen a la formación de los elementos esqueléticos del oído medio. Así mismo la comparación de la emigración de la cresta neural en los embriones de pollo y roedores, han demostrado que tienen un comportamiento similar (Lumsden y cols., 1991; Serbedzija y cols., 1992; Osumi-Yamashita y cols., 1994). Por ejemplo, los diferentes arcos branquiales son colonizados por células de la cresta neural que proceden de las mismas áreas rostrocaudales del cerebro en desarrollo. Es más, los

elementos esqueléticos considerados como sus homólogos evolutivos se desarrollan de regiones similares en los embriones de ave y mamífero (Carlson, 1994; Köntges y Lumsden, 1996). La inactivación del *Hoxa-2* (Gendron-Maguire y cols., 1993; Rijli y cols., 1993), que está expresado en la cresta neural del segundo arco branquial (Prince y Lumsden, 1994; Mallo, 1997), produjo un fenotipo en los elementos esqueléticos del oído medio, similar al resultante de los injertos heterotípicos en el pollo (Noden, 1983 a y b) ya que también podría haber inducido una baja regulación del *Hoxa-2* en el segundo arco branquial (Prince y Lumsden, 1994).

Por tanto, la discusión sobre el origen de los elementos del oído medio está basada fundamentalmente en los estudios realizados sobre el origen de sus homólogos correspondientes de las aves (Couly y cols., 1996; Köntges y Lumsden, 1996). Según estos últimos, los elementos de los tres primeros arcos branquiales derivan de las diferentes combinaciones de las células de la cresta neural que emigran de la porción caudal del cerebro medio y de los dos primeros rombómeros. El anillo timpánico se desarrollaría del cerebro medio y r1(rombómero 1) de la cresta neural, el martillo derivaría del cerebro medio y r1 y r2 de la cresta neural y el incus podría formarse de los r1 y r2 de las células crestales. El estribo, elemento del segundo arco branquial, derivaría del rombómero 4. La porción de este hueso que tendría su origen de la cápsula ótica (Cauldwell y Anson, 1942) sugeriría un origen mesodérmico. Sin embargo atendiendo a los experimentos realizados en

aves, éstos han mostrado que el área de la cápsula ótica donde está localizada la ventana oval también deriva de la cresta neural (Couly y cols., 1993). Por tanto, aunque la base del estribo se desarrollara como una parte de la cápsula ótica, aún podría tener un origen crestoneural. Posibilidad, esta última, apoyada por los experimentos en los que la interferencia de la cresta neural en determinadas fases produce un fracaso del desarrollo de la base stapelial (Mallo, 1997).

La secuencia migratoria de las células de la cresta neural que formaran cada uno de los elementos del oído medio, sigue una sucesión típica que en el ratón se realiza entre los 8 días y 4.5 horas y el día 8 y 7.5 horas postfertilización (Mallo, 1997), secuencia migratoria que ha sido determinada en base al análisis del fenotipo, tras el bloqueo de la emigración de la cresta neural en tiempos muy poco diferentes en el desarrollo del ratón. Según estos estudios, las primeras células de la cresta neural que inician la emigración son aquellas que contribuirán a la formación de la cabeza del malleus, seguidas por las que constituirán la cabeza del incus. Las siguientes en emigrar son las que proceden de la cresta del r4 que contribuyen a la formación de la base estapelial. Las células crestales para el anillo timpánico y manubrio del malleus comienzan sus migraciones brevemente después. La coincidencia migratoria para estas dos estructuras es muy interesante, pues ambas se encuentran implicadas en la formación de la membrana del tímpano, pudiendo reflejar un mecanismo en

la coordinación morfogenética de los elementos que forman la membrana del tímpano. Las células de la cresta neural que están involucradas en la formación del anillo estapedial inician su emigración a continuación y seguidas por las que contribuyen a la formación del cuello del malleus. Las últimas células en emigrar son las que forman el proceso largo del incus. Debe señalarse, sin embargo, que existe un solapamiento en los tiempos de emigración, de tal manera que cuando unas células comienzan su emigración, otras que lo habían hecho previamente continúan su emigración hasta que la morfogénesis del elemento se ha completado.

Los recientes estudios en aves de Köntges y Lumsden, 1996, indican que aunque la cresta neural no contribuye a la formación de la musculatura del área, si el tejido de las áreas de inserción, pudiendo ser éste otro ejemplo de mecanismo de coordinación en la formación de estructuras complejas procedentes de distintos orígenes.

La cavidad del oído medio desarrollada de la primera bolsa faríngea, es una expansión lateral de la faringe localizada entre los dos primeros arcos branquiales. La cavidad primaria al alcanzar la membrana del tímpano le proporciona su epitelio interno. Pero la constitución de la cavidad definitiva no se produce hasta después del nacimiento, con la reabsorción del tejido mesenquimal y la formación de un tejido fibroso denso o cartilaginoso dispuesto por todas las paredes de la cavidad timpánica definitiva (Novacek,

1993). La interferencia en la formación de la primera bolsa (Goulding y Pratt, 1986; Webster y cols., 1986; Pratt y cols., 1987; Lee y cols., 1995; Mallo, 1997), conduce al fallo en el desarrollo de la cavidad del oído medio.

La ventana oval, localizada en la cápsula ótica tiene un origen mesodermal (Le Douarin y cols., 1993), sin embargo experiencias en aves indican que al menos la parte del cartílago del área donde se encuentra la ventana deriva de la cresta neural (Couly y cols., 1993). Si esto es así, podría hipotetizarse que ella se origina de la cresta neural del cuarto rombómero pues la ventana oval está ausente en los ratones mutantes *Hoxa-2*, junto a las estructuras del segundo arco branquial (Gendron-Maguire y cols., 1993; Riji y cols., 1993). Sin embargo aún cuando en estos embriones mutantes la pérdida de la ventana oval está asociada a la ausencia del estribo (Gendron-Maguire y cols., 1993; Riji y cols., 1993), la existencia de este huesecillo no es esencial para que la ventana se forme (Louryan y Glineur, 1992; Mallo, 1997). La formación concomitante del estribo, si podría ser, sin embargo, importante para la correcta constitución de la fenestra, ya que en ausencia del hueso la ventana siempre está deformada y es más pequeña (Louryan, 1991; Mallo, 1997).

En los últimos años se ha producido un gran paso en el conocimiento de los genes que están involucrados en la correcta morfogénesis del oído medio. Los mecanismos por los que los genes influyen en el desarrollo del oído

medio son muy diversos, debido al complejo mecanismo de la morfogénesis de esta área (Mallo, 1998). Según su papel en el desarrollo del oído medio, se pueden agrupar en tres categorías:

- a) genes involucrados en la formación del esqueleto
 - b) genes relacionados con el desarrollo de los arcos branquiales, y
 - c) genes involucrados en el desarrollo de áreas específicas del oído medio.
- a) Varios genes han sido identificados como responsables, en su forma mutante, de síndromes que afectan al desarrollo del esqueleto (Foster y cols., 1994; Reardon y cols., 1994; Wagner y cols., 1994; Putnam y cols., 1995; Bellus y cols., 1996). El más importante es el *Sox9* responsable de algunos tipos de displasia (Foster y cols., 1994; Wagner y cols., 1994). Se ha demostrado que este gen regula directamente la expresión de colágeno tipo II (Bell y cols., 1997), que es el mayor componente estructural del cartílago, sin el cual no se puede formar hueso endocondral (Li y cols., 1995). Por consiguiente el gen *Sox9* se encuentra relacionado con la regulación de la condrogénesis (Graves, 1997).
- b) Como hemos considerado previamente, los elementos esqueléticos de los arcos branquiales son de origen crestoneural (Le Douarin y cols., 1993), sin embargo para que estas células puedan desarrollarse deben experimentar una serie interacciones con los epitelios de los arcos

branquiales (Thesleff y cols., 1995). Genes que pueden tener efectos sobre este área, son el “*Treacle*”, “*AP-2*”, “*Endothelin 1(ET-1)*” y los receptores para el ácido retinoico (RARs). Se ha observado la importancia del *RT-1* en el desarrollo de la región craneofacial, como consecuencia de su inactivación en los ratones (Kurihara y cols., 1994). Este es un péptido secretado por los epitelios del primer y segundo arco branquial durante el desarrollo inicial (Kurihara y cols., 1994). Por consiguiente, parece probable que el *ET-1* sea uno de los factores de los epitelios de los arcos branquiales que es necesario para el desarrollo de la cresta neural que ha emigrado al área branquial. Si este péptido tiene un efecto trófico general sobre las células de la cresta neural o dirige su diferenciación, está aún por determinar (Mallo, 1998).

Los experimentos de inactivación del gen *AP-2* indican que este gen tiene un papel central en el desarrollo del área craneofacial (Schorle y cols., 1996; Zhang y cols., 1996). Se ha indicado que este gen parece ser que no está implicado en la formación o emigración de las células de la cresta (Schorle y cols., 1996; Zhang y cols., 1996), sino en la diferenciación o supervivencia de esas células en el área branquial.

El “*Treacle*”, se piensa que está implicado en el desarrollo de la cresta neural que emigra a los arcos branquiales en base a los efectos que producen las mutaciones de este gen sobre el desarrollo del área

branquial (Treacher Collins Syndrome Collaborative Group, 1996), aunque es desconocida la fase en la actúa (Mallo, 1998).

El RA podría también jugar un papel en la morfogénesis del oído medio. Las mutaciones del RAR producían ausencia total del stapes, así como pequeñas malformaciones del incus en las que establecía una conexión con el hueso aliesfenoidal. Considerando los amplios efectos de estas mutaciones en el área craneofacial así como los efectos del exceso de RA sobre la cresta neural premigratoria (Morris-Kay, 1993), se ha considerado que el RA es necesario para la formación o migración de la cresta neural (Lohnes y cols., 1994). Sin embargo es posible que no todas las células de la cresta neural necesiten RA para su desarrollo, ya que el malleus y el anillo timpánico, no se encontraban afectados (Lohnes y cols., 1994).

- c) Los genes *Hox* fueron los primeros en demostrarse que tenían efectos específicos sobre el desarrollo del oído medio. Los experimentos realizados sobre la inactivación de estos genes demostraron que el gen *Hox-2* tiene un papel fundamental en el desarrollo de las estructuras del segundo arco branquial (Gendron-Maguire y cols., 1993; Rijli y cols., 1993). En su ausencia, las estructuras del segundo arco no se desarrollan, produciéndose en cambio un duplicado de las estructuras que derivan del extremo proximal del primer arco (malleus, incus, anillo timpánico y

escama del temporal) que se formaban en el segundo arco branquial. Estos elementos además adoptaban una disposición en espejo con respecto a los normales. El stapes y la ventana oval no están presentes en estos ratones mutantes (Gendron-Maguire y cols., 1993; Rijli y cols., 1993). El *Hoxa-2* se expresa en la cresta neural que emigra en el segundo arco branquial (Prince y Lumsden, 1994; Mallo, 1997) e inicialmente fue propuesto como un gen selector, informando a la cresta neural del segundo arco branquial en un programa de diferenciación que sirve de guía para formación de estructuras que son típicas del segundo arco (Gendron-Maguire y cols., 1993; Rijli y cols., 1993). Recientemente se ha propuesto que la acción del *Hoxa-2* en el desarrollo del segundo arco branquial es indirecta, modulando la forma por la cual las células de la cresta neural responden a las señales patrones proporcionadas por el epitelio de los arcos (Mallo y Brändlin, 1997).

Las mutaciones del *Hoxa-1*, también han producido defectos en el oído medio, que nos indican que este gen podría jugar igualmente un importante papel en la formación de este área (Lufkin y cols., 1991; Chisaka y cols., 1992), en un caso estas anomalías quedaron limitadas a un pequeño defecto del stapes a nivel de su inserción en la ventana oval.

El *Mhox* es otro homeobox que interviene en el desarrollo del oído medio (Martín y cols., 1995). Afectándose todos los componentes esqueléticos de

esta región, fundamentalmente el anillo timpánico que está ausente en estos embriones. Otros defectos acontecen en el incus, en el que su proceso largo pierde la conexión con el stapes. La morfología del incus se parece al de su homólogo en los reptiles, el palatocadrado, que articulado al malleus (homólogo del articular) constituyen una articulación semejante a la de la mandíbula de los reptiles. El stapes está afectado pareciéndose a la columela, y aunque la base todavía se inserta en la ventana oval, el anillo stapelial ha perdido su foramen, quedando como una columna que no está articulada al incus. Por ello y en base a estas observaciones se ha sugerido que el *Mhox* se encuentra implicado en los mecanismos responsables de la evolución del cráneo (Martin y cols., 1995). Ya que este gen se expresa en el mesénquima de los arcos branquiales, podría ser un mediador molecular de las interacciones epitelio-mesénquimales que se necesitan para la diferenciación de los precursores de los elementos esqueléticos de la región craneal (Dunlop y Hall, 1995).

La familia de los genes *Dlx* también han sido implicados en la morfogénesis del oído medio. En particular la inactivación del *Dlx-2* producía malformaciones en el incus que no se articulaba con el stapes que era columeliforme, además la arteria estapedial estaba ausente (Qiu y cols., 1995). El *gsc* se expresa en el mesénquima de los dos primeros arcos branquiales que rodean la primera hendidura faríngea.

No obstante, la importancia de las funciones que tiene los genes en el desarrollo de ciertas estructuras debe analizarse con sumo cuidado, ya que en el área branquial se conocen muchas interacciones entre diversas estructuras que son necesarias para la morfogénesis de los diferentes elementos (Thesleff y cols., 1995). Por ello, la ausencia de una estructura como consecuencia de la inactivación de un determinado gen, puede en realidad reflejar un efecto secundario, en lugar de una influencia directa de dicho gen sobre la morfogénesis de la estructura. Así aunque los ratones mutantes *Dlx-1* y *Dlx-2* presenten una malformación del desarrollo del estribo y de la arteria estapedial (Qiu y cols., 1995 y 1997) hay que tener en cuenta y así ha sido reflejado por otros autores que el desarrollo embriológico de esas estructuras se realiza de manera coordinada (Anson y Caudlwell, 1942). Por consiguiente es muy probable que estos genes tengan un efecto directo en la morfogénesis de una de estas estructuras, que a su vez influiría en la formación de la otra (Mallo, 1998).

De todas las formaciones branquiales la menos estudiada es el segundo arco visceral, hecho que queda reflejado en la bibliografía.

Pero además en el análisis de la literatura existente se observan las notables discrepancias existentes, en cuanto a la contribución que tiene el segundo arco branquial en el oído medio. El objetivo primordial de nuestro trabajo es aclarar cual es la participación que tiene este segundo arco en la región

ótica. Pero además, consideramos de gran transcendencia, establecer las relaciones y determinar el patrón de desarrollo normal. Unicamente de esta manera podremos comprender las anomalías y malformaciones asociadas a síndromes que afectan al segundo arco.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la elaboración del presente trabajo de investigación se han analizado embriones y fetos humanos pertenecientes al Instituto de Embriología de la Universidad Complutense de Madrid (Prof. JIMÉNEZ COLLADO). De los 30 especímenes previamente observados se eligieron 18 para su descripción, en base a su tamaño, edad, grado de conservación, tinción y datos que aportan para este estudio.

Estos 33 especímenes están comprendidos entre los 6 y 150 mm. de longitud vertex-coccix (V-C), de 32 días (Estadio 13 de O'Rahilly) a las 17 semanas de edad gestacional, según los estadios de O'Rahilly (O'RAHILLY y MÜLLER, 1996)y de la Carnegie (CORLISS, 1979).

En su día, y por el servicio de laboratorio, siguiendo técnicas habituales, fueron fijados en formol neutro al 10%. A continuación se deshidrataron con etanol a concentraciones crecientes, aclarando con butanol o benceno; para más tarde hacer su inclusión en parafina. Con posterioridad se practicaron secciones seriadas, en los tres planos del espacio, con grosores variables de 8 a 25 μ dependiendo del tamaño del espécimen.

Previamente a su inclusión, los fetos fueron decalcificados en una solución de ácido tricloroacético al 5% disuelta en formol neutro al 15%. El tiempo de decalcificación varió según el tamaño fetal, oscilando entre diez días y un mes. Los cortes fueron teñidos según las técnicas de Mc'MANUS y MOWRY (1968), con hematoxilina de Harris y eosina, azocarmín y Bielschowsky.

El material fue examinado en un microscopio convencional Orthoplan y lupa Nikon H.F.M. Haciéndose un estudio morfodescriptivo y practicándose las microfotografías con cámaras Vario-Orthomat 2 y Nikon M-35 FA, de aquellos planos de sección que consideramos de mayor utilidad para cumplir el objetivo de nuestro trabajo. En la tabla 1, se detalla las características de los especímenes y en la tabla 2 las signaturas utilizadas en las microfotografías.

| EMBRIONES | PLANO DE SECCIÓN | V-C (MM) | ESTADIO DE O'RAHILLY |
|-----------|------------------|----------|----------------------|
|-----------|------------------|----------|----------------------|

| | | | |
|--------|-------------|-------|----|
| OY-4 | Transversal | 6 | 13 |
| GV-4 | Transversal | 7 | 14 |
| PT-11 | Transversal | 8 | 15 |
| BOT-9 | Transversal | 9 | 16 |
| CIV-3 | Transversal | 10,75 | 16 |
| MAR-12 | Transversal | 12 | 17 |
| GV-6 | Transversal | 13 | 17 |
| FAUS-6 | Transversal | 13,6 | 17 |
| GV-8 | Transversal | 14,5 | 18 |
| NO | Transversal | 15 | 18 |
| CIV-2 | Transversal | 16 | 18 |
| PA | Transversal | 17 | 19 |
| MAR-2 | Transversal | 18 | 19 |
| PR | Sagital | 19 | 20 |
| BR-3 | Sagital | 20 | 20 |
| AR | Frontal | 21,5 | 20 |
| GI-4 | Frontal | 26,5 | 22 |
| BR-4 | Frontal | 28 | 23 |

TABLA 1

| | |
|---|---|
| A Ganglio acústicofacial | GS Ganglio cervical superior del simpático cervical |
| A3 Tercer arco / cartílago del tercer arco | H Nervio hipogloso |
| AE Arteria estapedia | HU Hueso timpánico |
| AF Arteria facial | I Interhial |
| AH Arteria hioidea | J Nervio timpánico de Jacobson |
| AL Arteria lingual | L Laterohial |
| AO Arteria occipital | LA Ligamento anular |
| AS Arteria supraorbitaria | LE Lengua |
| AV Nervio auricular del vago | LS Nervio laríngeo superior |
| B1 Primera bolsa faríngea | M Meckel |
| C Vena capitis primitiva | MA Martillo |
| CE Arteria carótida externa | ME Músculo del estribo |
| CH Cuerpo hioides | MG Arteria meníngea media |
| CI Arteria carótida interna primitiva / carótida interna | MH Músculo hiogloso |
| CM Aastas mayores del hioides | NM Nervio mandibular |
| CO Cápsula ótica | O Vesícula ótica |
| CT Nervio cuerda del tímpano | P Crista parótica |
| D Músculo digástrico | PL Platina o base del estribo |
| E Anlage estapedial / estribo | PM Nervio petroso superficial mayor |
| EC Músculo esternocleidomastoideo | PT Músculo pterigoideo medial |
| EF Músculo estilofaríngeo | R Reichert |
| EG Músculo estilogloso | RE Estructura mesenquimal del 2º arco que no constituye cartílago de Reichert |
| EH Músculo estilohioideo | S Glándula submandibular |
| ES Nervio espinal | S1 Primer surco faríngeo |
| F Nervio facial | T Nervio trigémino |
| FA Faringe | TE Tendón del músculo del estribo |
| FS Fibras simpáticas | TLF Tronco venoso tirolinguofacial |
| G Nervio glossofaríngeo | TT Músculo tensor tympani |
| GA Ganglio de Andercht | V Nervio vago |
| GF Ganglio geniculado del facial | Y Yunque |
| GP Glándula parótida | YU Vena yugular interna |

TABLA 2

RESULTADOS

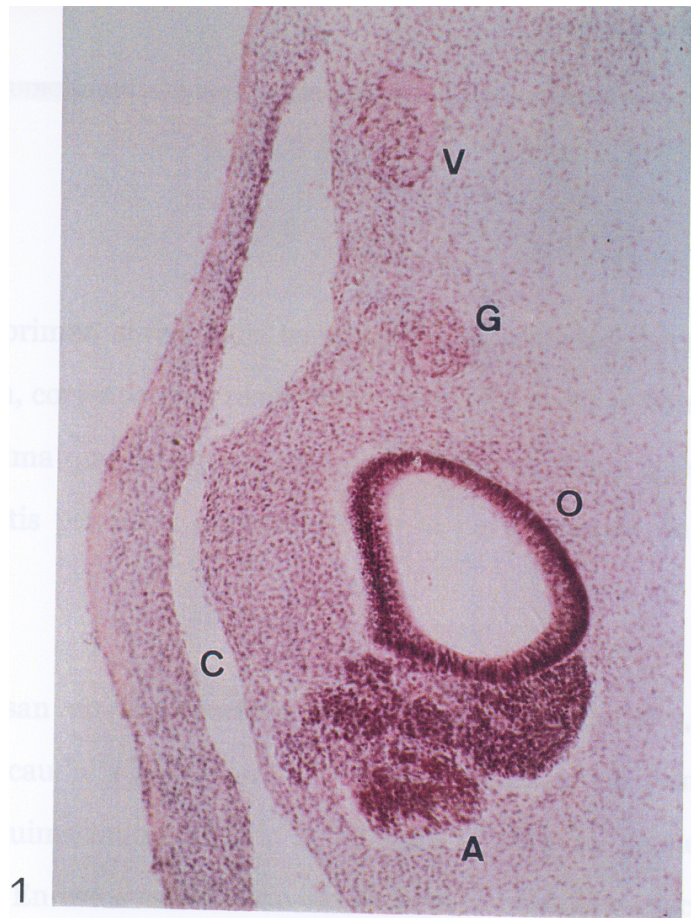
R E S U L T A D O S

En el *embrión humano de 6 mm. de longitud V-C(OY-4)*, observamos en las secciones craneales del polo cefálico, en niveles que se corresponden con la porción más inferior de la vesícula ótica, bolsa coclear, lateral al rombéncefalo, un área situada medial al segmento cefálico de la vena cardinal anterior y lateral al anlage del laberinto membranoso en cuya pared anterior se localiza el ganglio acústico-facial, constituida por un mesénquima totalmente indiferenciado, si bien los elementos celulares se encuentran en fase de condensación (Figs. 1, 2). Dorsal a estas estructuras aparecen también los ganglios del glossofaríngeo y vago.

El primer surco branquial aparece en la superficie embrionaria, con su epitelio engrosado, cuando deja de seccionarse la vena. Dicho surco se ubica enfrentado al VII par craneal.

El mesénquima observado cranealmente se encuentra y aparece menos delimitado del resto y situado entre vena cefálica, facial y pared lateral de la vesícula ótica.

A nivel del extremo más inferior de la bolsa coclear, lateralmente a ella, el mesénquima se encuentra aún más indiferenciado y dispuesto más laxamente (Fig. 2). Hemos de señalar que el nervio facial se encuentra en contacto con el ectodermo de superficie del primer surco. Los dos relieves

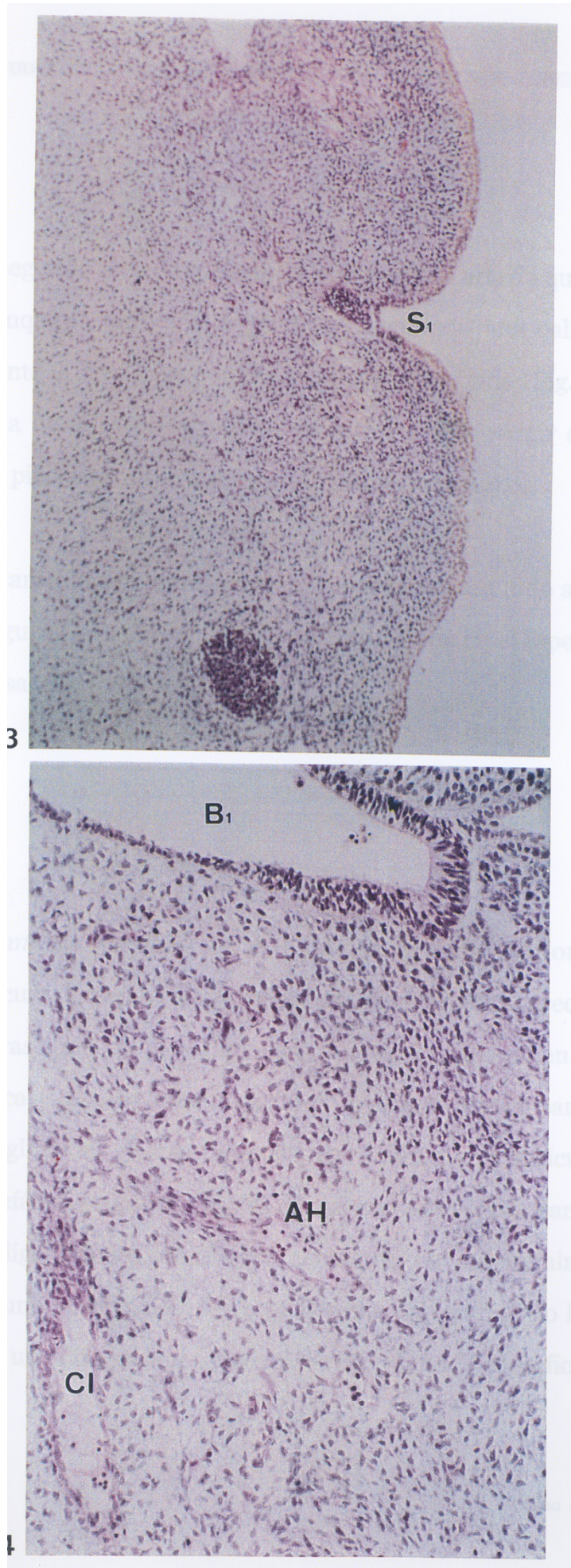


ventral y dorsal al primer surco, que se observan con claridad en la superficie embrionaria, corresponden respectivamente a los arcos primero y segundo. El mesénquima que determina los citados relieves y que quedan lateral a la vena capitis primitiva pertenecerán a la parte craneal de los citados arcos.

Los relieves que causan en la superficie los dos arcos branquiales, se observan con claridad caudal a la sección de la vesícula ótica, siendo posible observar en el mesénquima indiferenciado de ellos los nervios del primer y segundo arco (Fig. 3). En estos estadios no existe la mínima diferenciación celular en ellos. La delimitación de los arcos en la superficie es clara y manifiesta por mediación del surco, pero en el cuerpo embrionario la delimitación de ambos arcos resulta difícil ya que presentan una zona común enfrentada con el surco (Fig. 3).

La primera bolsa faríngea aparece a la sección con una luz estrecha cerca del ectodermo y amplía en proximidad a la luz faríngea, cuyo techo se encuentra seccionado. Aparecen claramente delimitados los dos arcos branquiales por la presencia de la luz de la primera bolsa faríngea y en la superficie por el primer surco (Fig. 4).

Medial al mesénquima del segundo arco y a los ganglios del glossofaríngeo y vago, se observa el trayecto de la carótida interna primitiva. Cuando esta se



encuentra a nivel del segundo arco de su pared lateral sale una arteria que se introduce en el mesénquima branquial segundo, presentando una calibre que es aproximadamente la mitad del que posee la arteria carótida (Fig. 4). De la arteria originada de la carótida interna primitiva parece surgir otra finísima ramita que se pierde en dirección ventral en el segundo arco.

La arteria rama de la carótida que corresponde a la arteria del segundo arco o hioidea es posible seguirla en dirección descendente, incluida en el espesor del segundo arco y dorsal al nervio facial.

En el *embrión de 7 mm. de longitud V-C (GV-4)* que muestra secciones transversales muy oblicuas. Lateral a las paredes rombencefálicas, aparecen una serie de estructuras, que en dirección ventrodorsal corresponden al trigémino, vesícula ótica y ganglio acústico-facial en contacto con la pared anterior de ella, y ganglios del glosofaríngeo y vago. Lateral a la vesícula ótica aparece la vena cefálica primitiva (Fig. 5). Entre esta última y la pared lateral de la vesícula, ligeramente cóncava, se encuentra un mesénquima indiferente, en el cual una observación detenida permite apreciar como las células van adoptando una disposición concéntrica (Fig. 5). En la superficie

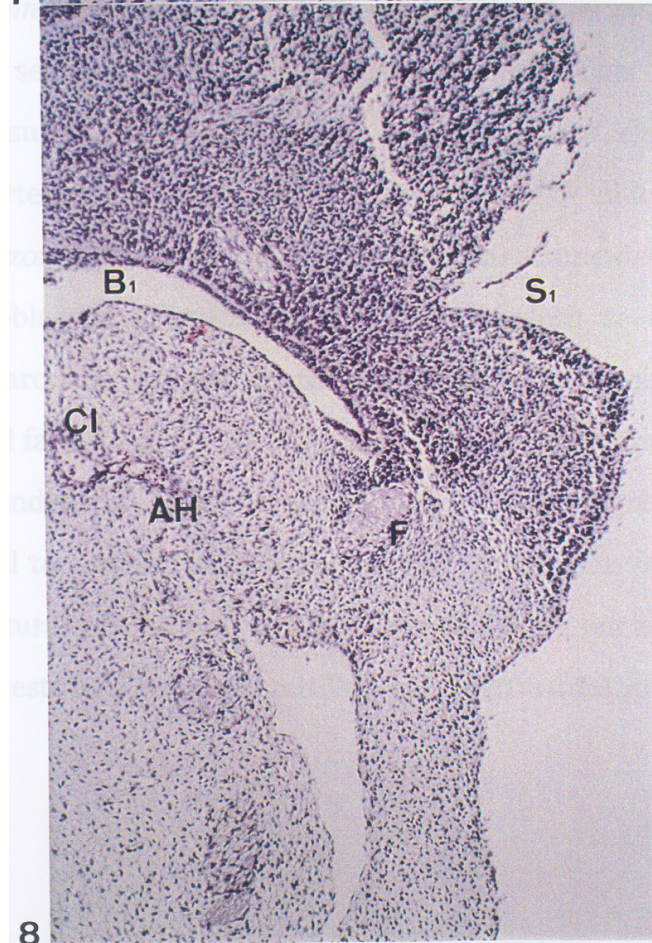
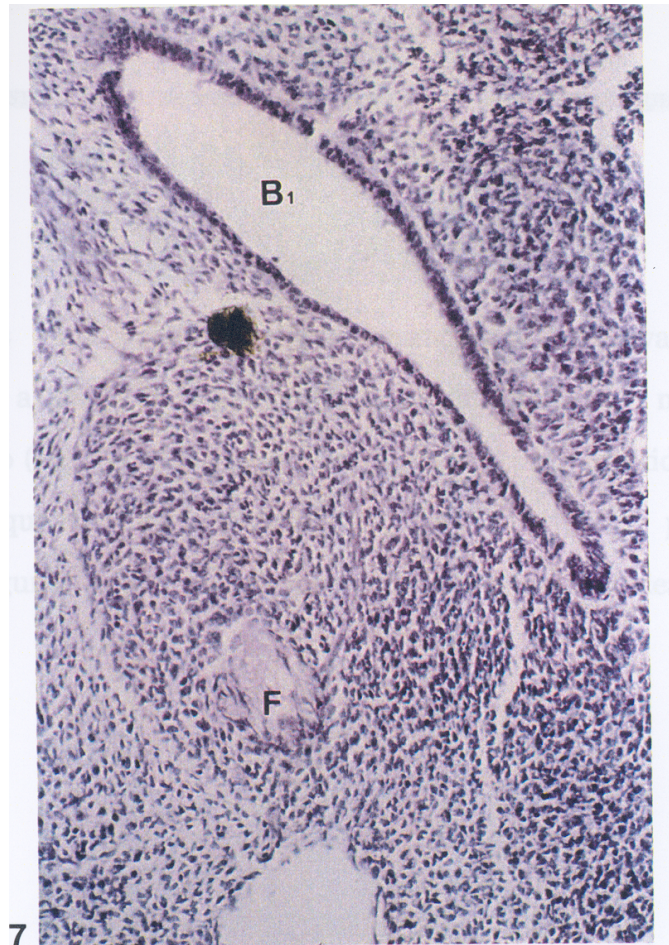


embrionaria a este nivel pudimos observar el extremo craneal del primer surco branquial.

La primera bolsa faríngea se ha prolongado cranealmente, presentando al corte una forma alargada y que nos divide dos territorios. Uno situado ventral a ella que corresponde al primer arco donde aparece el nervio trigémino y otro dorsal que topográficamente corresponde al segundo arco y en el hallamos al nervio facial y ganglio geniculado, entre la pared dorsal de la primera bolsa y el propio nervio facial, el mesénquima se encuentra más compacto celularmente que el de alrededor (Fig. 6). Lateralmente a estos elementos se observa la vena capitis primitiva.

Dorsal a la primera bolsa faríngea se dispone el nervio facial, el cual se encuentra incluido en la porción más dorsal de un mesénquima condensado, delimitado del resto y separado de la vesícula ótica, que muestra una imagen redondeada que se diferencia del mesénquima circundante (Fig. 7). El nervio petroso superficial mayor que ha emergido del nervio facial en niveles craneales, cuando este tiene el ganglio geniculado se sitúa muy cerca de la condensación referida.

Cuando en la sección ha desaparecido la vesícula ótica y debido al corte muy oblicuo, apreciamos como en el mesénquima del segundo arco, el nervio facial aparece próximo al extremo de la primera bolsa faríngea y entre



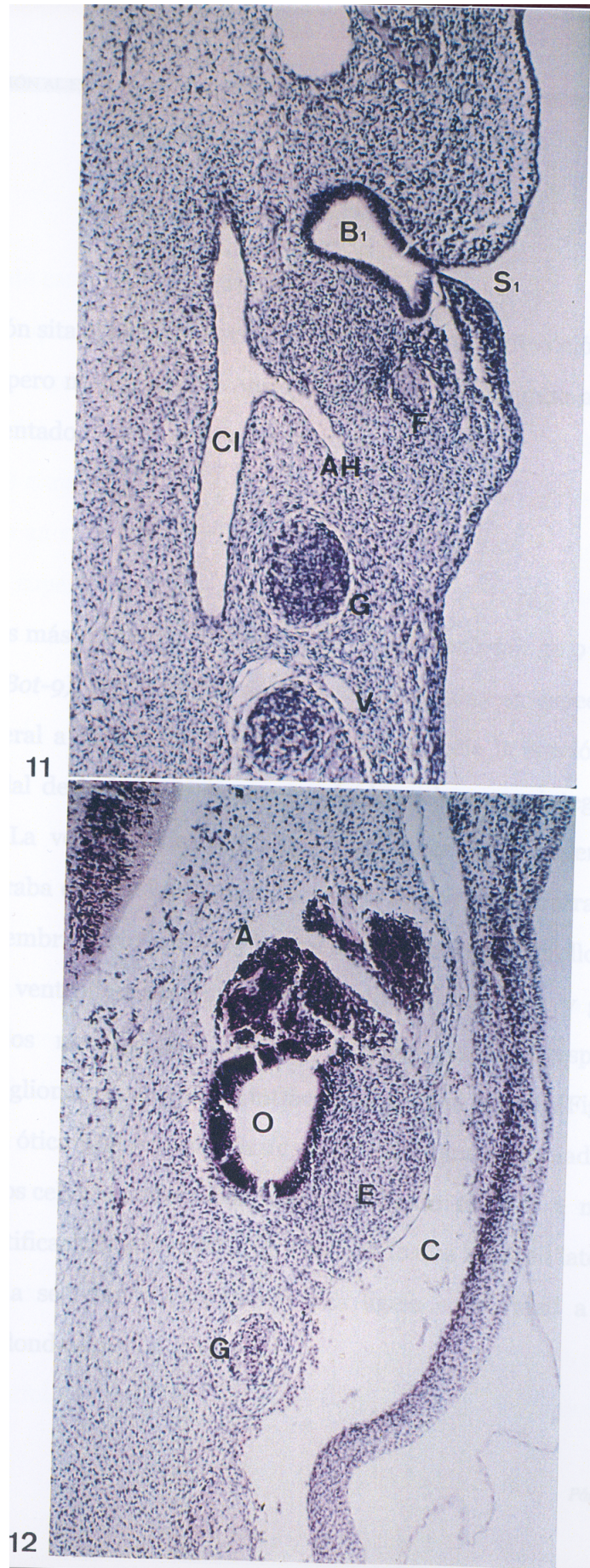
ambas estructuras una condensación mesenquimal relativamente delimitada, dorsal a ellos se encuentran la vena yugular y nervios glossofaríngeo y vago (Fig. 8). De la pared lateral de la arteria carótida sale un ramo arterial que se dirige lateralmente, para distribuirse por el mesénquima del segundo arco y que correspondía a la arteria hioidea (Fig. 8).

En este *embrión humano de 7 mm. de longitud V-C* fue observado como entre el primer y segundo arco, delimitados en la superficie por un manifiesto primer surco, existía una unión, por lo que los elementos mesenquimales pertenecientes a uno y otro arco son difícilmente demarcables. Esta zona de unión, queda limitada medialmente por la primera bolsa entoblástica faríngea. Un elemento nervioso se dispone conectando los dos arcos es el nervio cuerda del tímpano, que se observa a nivel de su salida del facial (Fig. 9). Medial y lateral al cuerda del tímpano el mesénquima está condensado, la condensación medial determina relieve en la faringe. Este nivel topográfico se corresponde con la situación donde se ubicarán dos estructuras que estarán separadas precisamente por el nervio cuerda del tímpano, esto es mango del martillo y ramo vertical del yunque.



En el *embrión humano de 8 mm. de longitud V-C (PT-11)* y lateralmente a la porción más caudal del rombencéfalo, se encuentra la vesícula ótica de imagen triangular a la sección, en su pared anterior aplicado a ella fue observado el ganglio acústicofacial y relacionándose dorsalmente a ella se disponían los nervios glosofaríngeo y vago (Fig. 10). Como en los embriones anteriores, lateralmente a la vesícula el segmento cefálico de la vena cardinal anterior y entre ambos un área de mesénquima cuyas células adoptan una disposición circular, más manifiesta que en estadios anteriores (Fig. 10).

Al seccionarse la primera bolsa, dorsalmente a ella se observó un mesénquima cuyo límite dorsal correspondía a una rama procedente de la arteria carótida interna primitiva que emergía de su pared lateral y de la cual a su vez salía una finísima rama o brote arterial que finalizaba en el mesénquima anterior (Fig. 11). Esta arteria correspondía al segundo arco arterial aórtico branquial. En el mesénquima condensado pudo apreciarse como existían dos áreas una de morfología redondeada y otra adyacente al nervio facial más condensada (Fig. 11). Destacamos en este área la relación de estas formaciones con el voluminoso ganglio extracraneal del glosofaríngeo.



La condensación sita al lado del nervio facial se extendía en dirección caudal un poco más, pero no fue posible observarla en todo el segundo arco, que había experimentado un importante crecimiento.

En las secciones más craneales fue observado en este *embrión de 9 mm. de longitud V-C (Bot-9)*, similar disposición a las mostradas en especímenes anteriores. Lateral a la vesícula rombencefálica, aparecía la sección de la parte más caudal de la bolsa o segmento sáculo-coclear que integraba la vesícula ótica. La vena cefálica primitiva, muy cerca del ectodermo de superficie, separaba este de las distintas estructuras que se encontraban en el mesénquima embrionario cefálico y lateral al encéfalo en desarrollo. Estos elementos eran ventrodorsalmente, el complejo vesícula ótica y ganglio acústico-facial, los nervios glossofaríngeo y vago con sus respectivas formaciones ganglionares superiores (intracraneales en el futuro) (Figs. 12). Entre la vesícula ótica y la vena existía un mesénquima indiferenciado en el cual los elementos celulares adoptaban una disposición circular a manera de capas o estratificación concéntrica, determinando que la pared lateral de la citada vesícula se adaptara formando una ligera concavidad a dicha condensación redondeada (Fig. 12).

Inmediatamente caudal al recorrido de la vena capitis primitiva, se observó al nervio facial que presentaba lateroventral a él un acumulo celular que correspondía al ganglio geniculado. Dicho nervio se dirigía dorsal y lateralmente (Fig. 13). La disposición celular, en su conjunto de forma redondeada, se situaba medial al citado nervio. Lateral a este y a la vena capitis aparecía un vaso, que fue interpretada como la arteria supraorbitaria (Fig. 13). En la superficie embrionaria se observó la extremidad craneal del primer surco branquial. Por tanto el nervio facial en su trayecto cruzaba bajo la vena capitis para dirigirse y disponerse con absoluta claridad en la porción craneal del mesénquima del segundo arco.

En la superficie embrionaria aprecian ventro-dorsalmente los surco primero, segundo y tercero, que delimitaban entre ellos los relieves mesenquimales correspondientes a los arcos primero, segundo y tercero. El mesénquima existente en ellos se continuaba entre sí y únicamente el primer y segundo arcos se encontraban bien delimitados por la sección del extremo craneal de la primera bolsa faríngea. Cada uno de los arcos presentaban los ganglios y nervios correspondientes trigémino (primero), glossofaríngeo y ganglio (tercero), vago y su ganglio (cuarto). En el segundo arco se disponía el nervio facial, sobre cuya pared medial el mesénquima se encontraba más condensado que en el resto y que contactaba con la porción dorsolateral del mesénquima indiferenciado que adoptaba en su conjunto una morfología circular. La arteria carótida interna primitiva daba



13



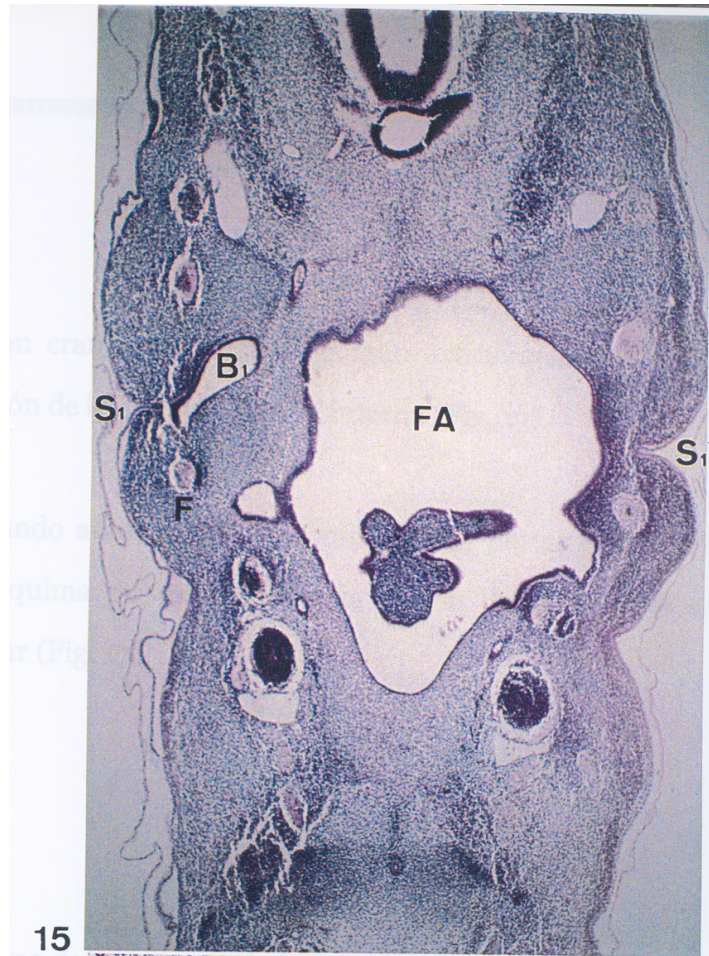
14

un ramo arterial que se dirigía laterodorsalmente, en el mesénquima del segundo arco y que fue interpretada como el segmento dorsal del segundo arco arterial (Fig. 14).

La luz de la faringe muy amplia cranealmente presentaba en el lado derecho los recesos que indican las bolsas faríngeas (Fig. 15). En el lado izquierdo y como consecuencia de la sección oblicua aparecía la primera bolsa que delimitaba los dos primeros arcos (Fig. 15). En el segundo arco fue observada el segundo arco arterial nacido de la carótida interna primitiva y el nervio facial sobre cuya pared medial las células mesenquimales se condensaban (Fig. 16).

En el lado derecho se observó la delimitación clara del segundo arco y el nervio facial incluido en el, su mesénquima no mostraba ninguna imagen de agrupación celular. Entre el primer surco y el epitelio del endodermo faríngeo, existía un área de comunicación mesenquimal entre los dos arcos (Fig. 15).

La arteria del segundo arco rama de la carótida no fue posible seguirla caudalmente. En el lado derecho se observaron en los dos mamelones del primer arco los nervios maxilar y mandibular y en el segundo el facial (Fig. 17). En el tercero el nervio glossofaríngeo y un acumulo celular con luz (paratiroides III) que era continuo con los elementos celulares del nervio y



15



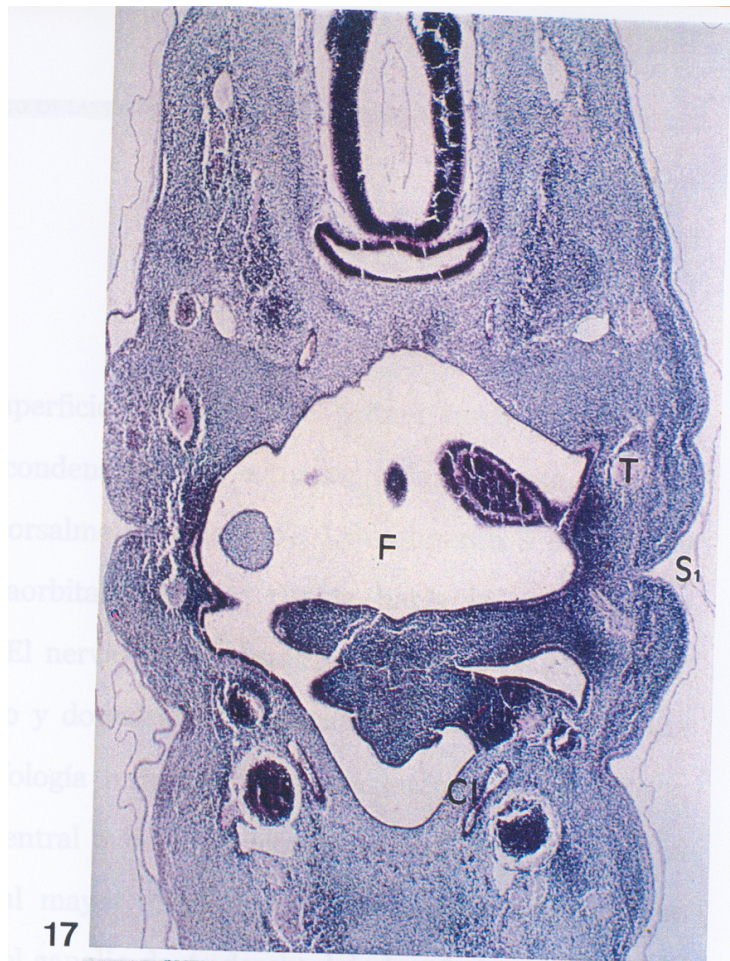
16

ganglio en dirección craneal. Medial al ganglio extracraneal del vago se observó la disposición de la arteria carótida interna (Fig. 17).

La sección del segundo arco casi en su totalidad nos permitió comprobar como en el mesénquima no existía en esta región del arco la mínima diferenciación celular (Fig. 17).

En el *embrión humano de 10.75 mm. de longitud V-C (CIV-3)* fue observado al igual que en embriones anteriores como entre la vena capitis primitiva y la vesícula ótica se disponía un mesénquima más condensado. La vesícula presentaba asociada a su pared anterior el ganglio acústicofacial. Alrededor de la vesícula ótica el mesénquima presentaba un grado de condensación mesenquimal mayor que en estadios precedentes, pero en su pared lateral la condensación se delimita difusamente del resto al adquirir las células un patrón circular a manera de capas concéntricas (Fig. 18).

La condensación mesenquimal referida anteriormente se extendía disponiéndose medial al nervio facial cuando la sección correspondía a la base de la vesícula en la que el tejido mesenquimal condensado, anlage de la cápsula ótica, se encontraba claramente delimitado del resto (Fig. 19).

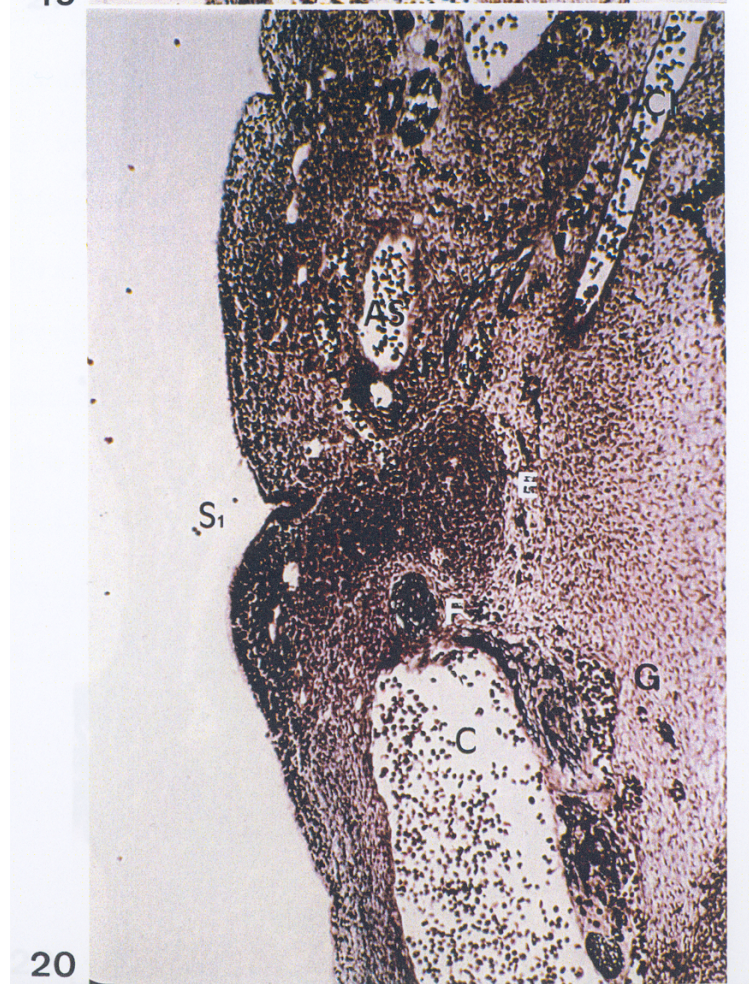


Cuando aparece en la superficie embrionaria el primer surco branquial, el blastema mesenquimal condensado se situaba bajo la vena que era seccionada ventral y dorsalmente (Fig. 20). Lateralmente a la vena se observó la arteria supraorbitaria que se dirigía hacia la condensación mesenquimal (Fig. 20). El nervio facial situado claramente en el extremo craneal del segundo arco y dorsal a la condensación, la cual poseía una porción medial de morfología redondeada y otra lateral sin una forma determinada (Fig. 20). Ventral a la citada condensación fue observado el nervio petroso superficial mayor, dorsalmente una ramita nerviosa que parece unir el facial con el ganglio de Andercht del glossofaríngeo (Fig. 20). En la sección aparece el trayecto de la arteria carótida interna primitiva (Fig. 20).

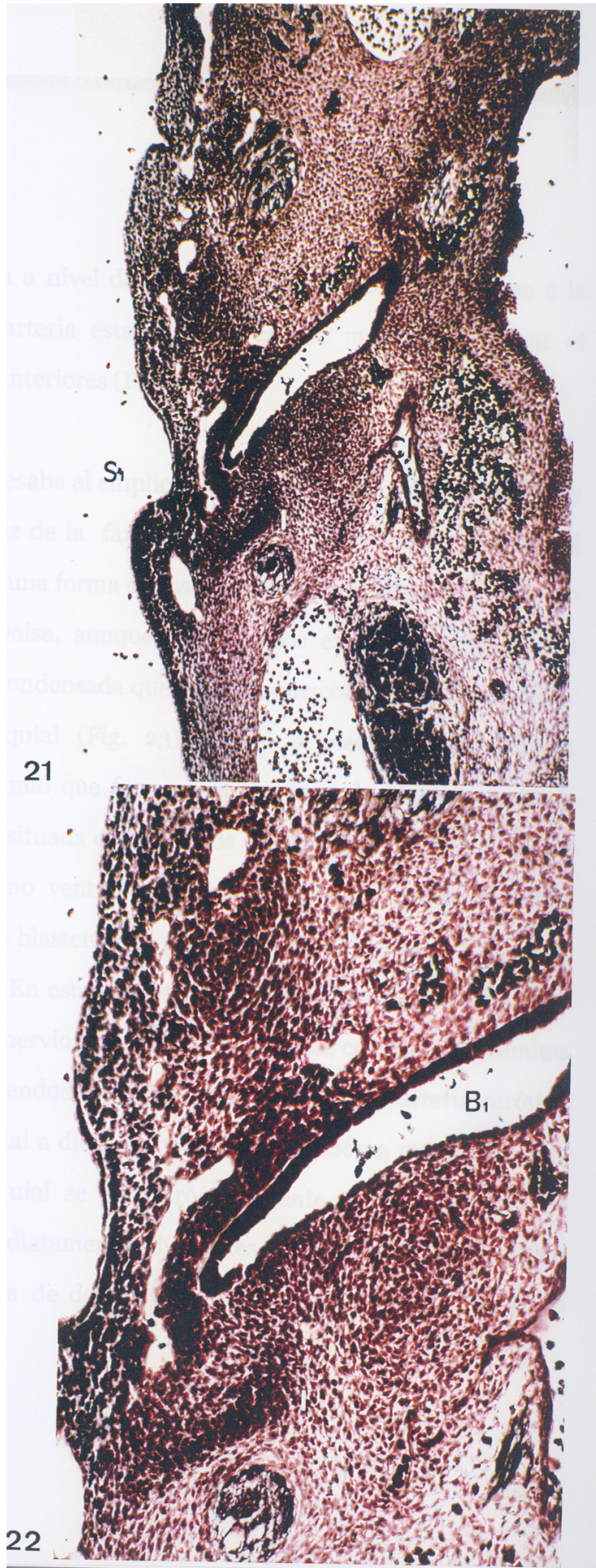
La condensación observada en secciones anteriores, al aparecer la primera bolsa entoblástica faríngea se localizaba dorsal a ella adoptaba una morfología redondeada pero no se encontraba tan bien delimitada como en secciones craneales, esta se continuaba lateralmente de manera poco nítida con otra condensación mesenquimal más evidente situada ventral al nervio facial y que en nuestra opinión corresponde al interhial (Figs. 21, 22). En la superficie ectodérmica se insinúa el primer surco. Entre las relaciones observadas en este área con otros elementos se encontraba la arteria carótida interna con dos nervios el petroso superficial mayor y el nervio



19



20



timpánico de Jacobson a nivel de la pared lateral arterial y próximo a la salida de esta de la arteria estapedial, de calibre más reducido que el observado en estadios anteriores (Fig. 21).

Cuando la sección interesaba al amplio conducto faringobranquial primero y por tanto también la luz de la faringe. En la superficie del ectodermo, el primer surco adoptaba una forma en fosa, que estaba enfrentado al extremo lateral de la primera bolsa, aunque entre ambos existía una zona o área mesenquimatosa, más condensada que el resto, que comunicaba el primer y el segundo arco branquial (Fig. 23). En el primer arco aparecía la condensación mesenquimal que formará el cartílago de Meckel, continua con el área condensada situada entre los dos arcos (Fig. 23). En el segundo arco fue observada como ventral al nervio facial se disponía con toda claridad la condensación blastemática precartilaginosa de este arco es decir, el cartílago de Reichert. En esta sección además fue observada la salida del ganglio de Auerbach del nervio timpánico de Jacobson, con distintas ramitas que se dirigían hacia el endodermo faríngeo (Figs. 23). La arteria carótida interna se disponía medial a dicho nervio. La disposición a manera de fosa del primer surco branquial se encontró solamente en la sección antes comentada y en las inmediatamente adyacentes, interpretando dicha región como el área prospectiva de donde va a originarse el conducto auditivo externo.



El *embrión de 12 mm. de longitud V-C (MAR-12)* presenta secciones transversas muy oblicuas, y fueron observadas no solo el segmento más inferior de la vesícula ótica sino también la parte más alta del primer surco branquial. La vesícula ótica adoptaba una forma triangular y en su pared ventromedial en su típica situación el ganglio acústicofacial. La pared lateral adopta una forma cóncava. Rodeando a la vesícula el tejido mesenquimatoso se disponía más condensado, anlage de la cápsula ótica. Entre la vesícula y la vena cefálica primitiva la condensación mesenquimal adoptaba una forma difusamente circular (Fig. 24).

Pudimos observar como bajo la vena cefálica primitiva y siguiendo un trayecto dorsolateral el nervio facial alcanza el segundo arco, delimitado en la superficie por el primer surco. La condensación mesenquimal situada medial la nervio, tiene forma ovalada (Fig. 25). En el primer arco y lateral a la vena se observa una arteria que corresponde a la arteria supraorbitaria (Fig. 26). El nervio facial como consecuencia de la curva que efectúa para continuarse con su porción vertical parece estrecharse hasta quedar dividido como consecuencia de la sección en dos (Fig. 26), a el le esta llegando una rama del nervio glossofaríngeo, procedente de su ganglio extracraneal (ganglio de Andercht) y que fue interpretada como el asa de Haller (Figs. 25,

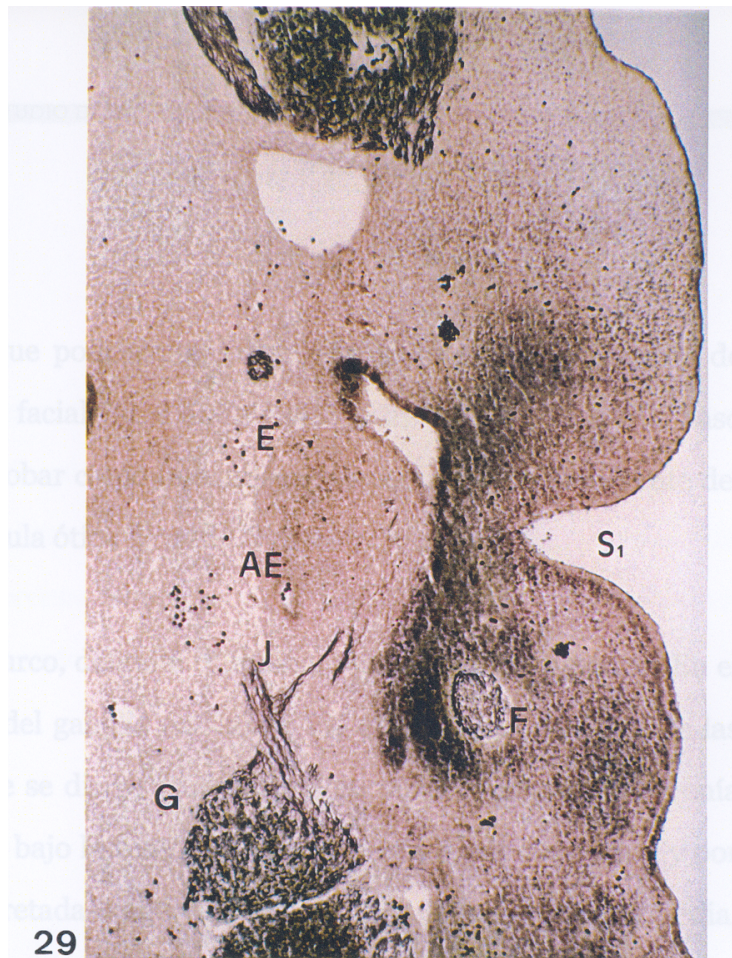


26). Bajo el nervio facial la condensación parece estrecharse, adoptando una forma en huso, mientras que la arteria supraorbitaria se iba disponiendo bajo la vena entre ella y el extremo craneal de la primera bolsa, alcanzando la condensación mesenquimal (Fig. 26).

La arteria supraorbitaria cruzaba del primer al segundo arco, situándose bajo la vena y el nervio facial y atravesando la condensación mesenquimal parecía dividirla en dos (Fig. 27). Esta condensación era continua con otra que se encontraba medial al nervio facial. Por tanto esta arteria quedaría entre los dos codos que posee el nervio facial.

Cuando la sección interesaba con toda claridad la primera bolsa entoblástica faríngea (Fig. 28). Se observaba el relieve que forma en la superficie el segundo arco, y como dorsomedial a la primera bolsa se seguía observando el mesénquima condensado que estaba atravesado por la arteria supraorbitaria, que en estos estadios se comprobó que era continua y por tanto rama de la arteria estapedia, esta se pudo observar que se encontraba en la porción dorsal de dicha condensación (Fig. 28). El nervio facial presentaba por delante otra condensación y que contrasta notablemente con otra de morfología circular, mal delimitada ya descrita y que contiene la arteria estapedia. La condensación situada ventral al facial y que a la sección tenía forma triangular y que interpretamos como interhial, parece reunir la condensación de morfología circular y que se encuentra atravesada por la



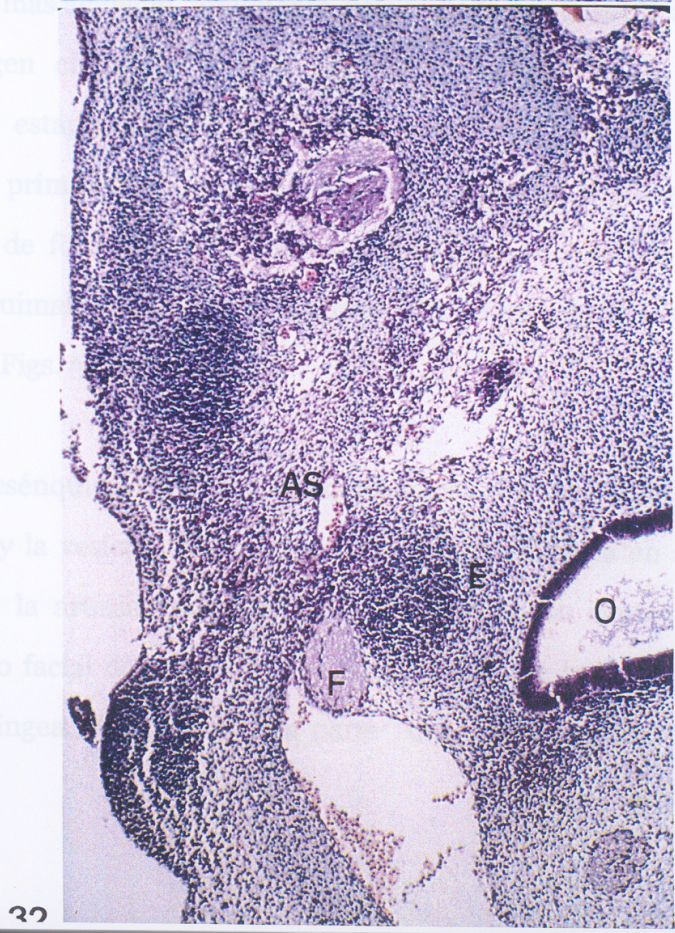
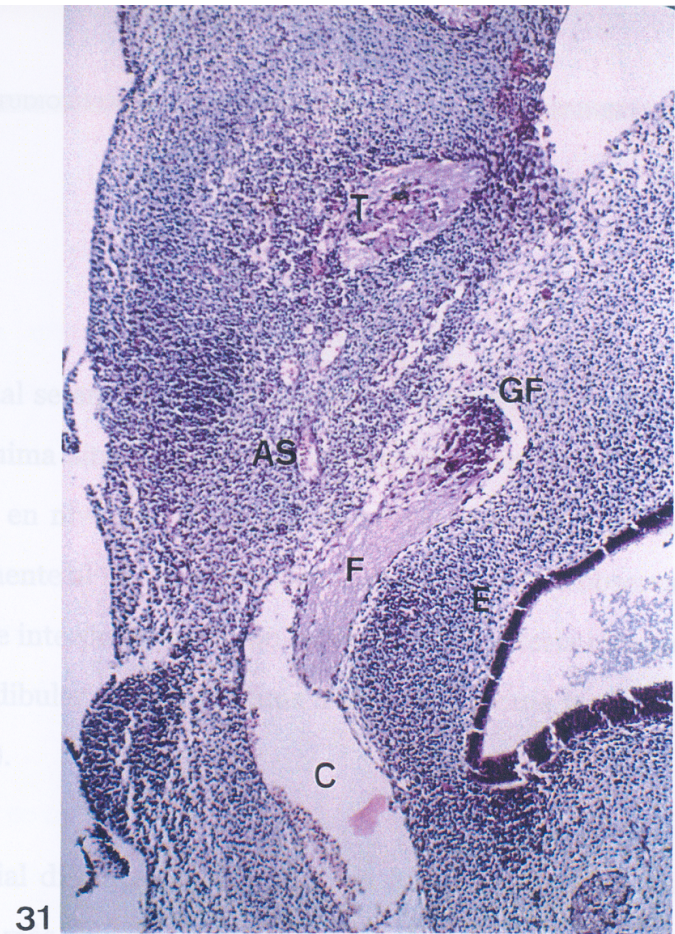


arteria estapedia y que podríamos denominar como anlage estapedial de otra situada lateral al facial y mal definida (Figs. 27, 28). En cualquier caso hemos podido comprobar como este anlage estapedial es independiente del que rodeando la vesícula ótica formará la cápsula ótica.

El profundo primer surco, delimita claramente los dos primeros arcos. En el primer arco además del ganglio de Gasser fue posible observar una de las ramitas arteriales que se dirige caudalmente en dicho arco y que provenía del ramo que cruzaba bajo la vena capitis, la otra era la supraorbitaria y por tanto esta fue interpretada como el ramo inferior de la arteria estapedia, también denominada mandibular (Fig. 29). El nervio facial presentaba medial a él una condensación blastemática que se encontraba indudablemente en el segundo arco (Fig. 29), así como también existe área de condensación ventral al nervio facial y que es continua con el mesénquima situado entre los dos arcos. Por tanto como en embriones anteriores también fue observada como entre la primera bolsa y el ectodermo hay una zona de comunicación mesenquimal entre los dos primeros arcos (Fig. 29, 30). Dorsomedial a la bolsa aparece una imagen redondeada que contrasta notablemente con la adyacente al facial que periféricamente a ella y en su porción dorsal se siguió observando la arteria estapedia. Del ganglio de Andercht salía en este área ótica el nervio timpánico de Jacobson que daba ramitas dirigidas hacia el endodermo de la primera bolsa faríngea (Figs. 29, 30).

La arteria estapedia es rama lateral de la carótida interna y se relacionaba con ramas del nervio timpánico (Fig. 30). El mesénquima de los arcos se une en el área que queda entre el primer surco y el entoblasto, este mesénquima se observó que era atravesado por el nervio cuerda del tímpano seccionado a nivel de su salida del nervio facial (Fig. 30).

Las secciones del *embrión de 13 mm. de longitud V-C (GV-6)* son transversales muy oblicuas. El segmento inferior de la vesícula ótica ha experimentado un gran crecimiento en relación a estadios anteriores, adoptando una morfología diferente por el tipo de sección. Esta se encontraba rodeada por una condensación mesenquimal evidente que constituye el anlage de la vesícula ótica. En su parte ventrolateral se localizaba el ganglio geniculado y nervio facial. Estos dos elementos eran cruzados lateralmente por la vena capitis, a nivel del futuro seno sigmoideo, mientras que el ganglio de Gasser, se disponía lateral a dicha vena en su porción que constituirá el seno cavernoso. Los nervios glossofaríngeo y vago se disponían dorsalmente a la vesícula ótica. Por tanto a este nivel la vesícula se encontraba rodeada por un mesénquima que se disponía uniformemente alrededor de ella.



Cuando el nervio facial se encontraba seccionado a su bajo la vena cefálica (Fig. 31). El mesénquima situado entre el y la vesícula ótica se encuentra más condensado que en niveles craneales, y va adoptando una morfología redondeada. Lateralmente al nervio facial y en el primer arco fue observada la división arterial que interpretamos como las ramas de la arteria estapedia supraorbitaria y mandibular y como próxima a ellas se disponía la rama VC del trigémino (Fig. 31).

Cuando el nervio facial discurre bajo la vena, es cuando la condensación mesenquimal se hizo más evidente, totalmente aislada de la vesícula ótica y ofreciendo una imagen circular, en cuya porción periférica lateral se encontraba la arteria estapedia (Fig. 32). Lateral a estas estructuras, el extremo craneal de la primera bolsa y en el ectodermo el primer surco que adoptaba una forma de fosa (Fig. 33). En el primer arco se observó la condensación mesenquimal, anlage del cartílago de Meckel en relación con el nervio mandibular (Figs. 32, 33).

Se observó como el mesénquima condensado, continuo con el que se situaba entre el nervio facial y la vesícula ótica, presentaba una morfología en su conjunto circular con la arteria estapedia prácticamente en su centro y situado entre el nervio facial dorsalmente y la pared dorsal de la primera bolsa entoblástica faríngea. Existía por otra parte una clara separación

entre el mesénquima que rodea a la vesícula ótica en desarrollo, anlage de la cápsula ótica y el situado entre nervio y extremo craneal de la primera bolsa o anlage estapedial (Fig. 33).

Esta condensación mesenquimal se encuentra más condensada en sus partes laterales y posterior como si tratara de rodear a la arteria estapedia por lo que adquiere una forma de V (Fig. 33).

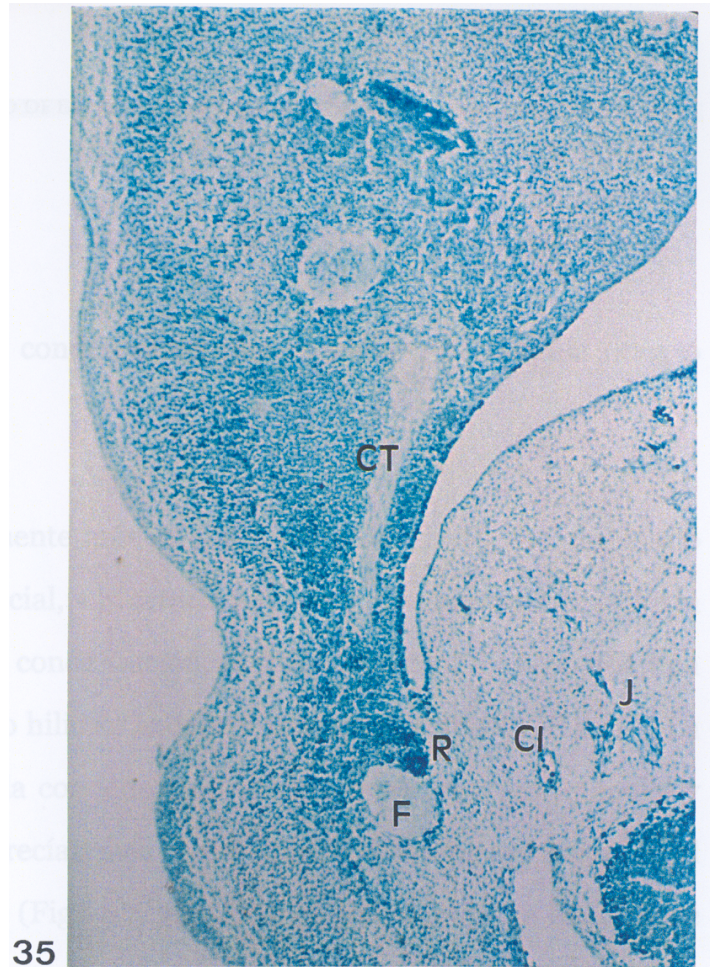
En secciones caudales se observó como la parte lateral del anlage estapedial se continua lateralmente sobre la cara ventrolateral del nervio facial, este área de condensación corresponde al llamado interhial (Fig. 34).

Cuando la sección interesaba al nervio cuerda del tímpano en su trayecto pasando del segundo al primer arco y llegando al nervio lingual. Fue observada como el nervio facial presentaba sobre su cara anterior una condensación mesenquimal bien manifiesta que fue interpretado como correspondiente al blastema precartilaginoso del cartílago del segundo arco (Fig. 35). El segundo arco determinaba un marcado relieve sobre la superficie embrionaria. Medial al nervio facial y a la primera bolsa este se relacionaba con la vena yugular, ganglio de Andercht, arteria carótida interna y ramitas del nervio timpánico de Jacobson (Fig. 35).



En el *embrión humano de 13.6 mm. de longitud V-C (FAUS-6)*, nos interesaba el área situada a un nivel de sección donde en la superficie embrionaria aparecía la parte más alta del primer surco, cruzando el mesénquima más craneal de ambos arcos se dispone la vena cefálica. La vesícula ótica se relacionaba con el ganglio de Gasser, mientras que dorsalmente lo hacía con los nervios glosofaríngeo y vago. Por dentro de la vena y lateral a la vesícula pero aplicado al nervio facial, el mesénquima de este área constituía un área de condensación con morfología circular. Área condensada que aunque en contacto con el mesénquima condensado periótico, constituía por su morfología y disposición celular una zona definida del anlage capsular ótico, y que era mucho más evidente caudalmente, pues entre ellas la delimitación se hacía más clara (Fig. 36). Lateral a la vena capitis se observa una de las ramas de la arteria estapedia, arteria supraorbitaria (Fig. 36).

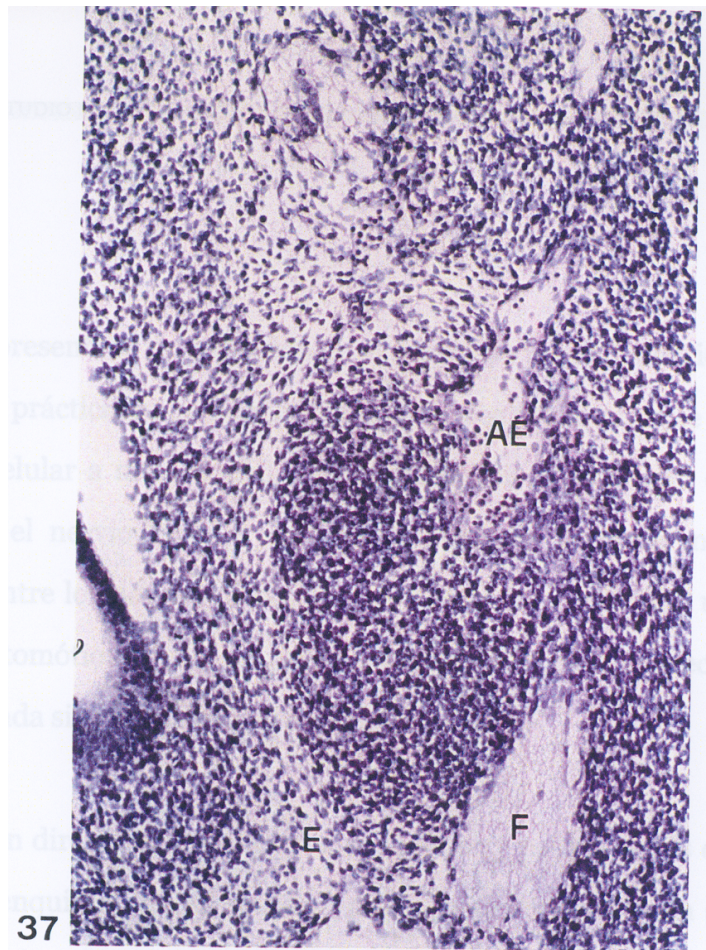
El crecimiento craneal del primer surco, y la expansión en este mismo sentido del extremo craneal de la primera bolsa, determinó que aparecieran en la sección donde el nervio facial se disponía bajo la vena capitis en lo será su trayecto horizontal (futura porción timpánica) (Fig. 36). El nervio rodeaba lateralmente a la condensación mesenquimal descrita previamente que ofrecía una imagen de morfología ovalada y que contrastaba con



absoluta claridad con la condensación que rodeaba a la vesícula ótica o periótica (Fig. 36).

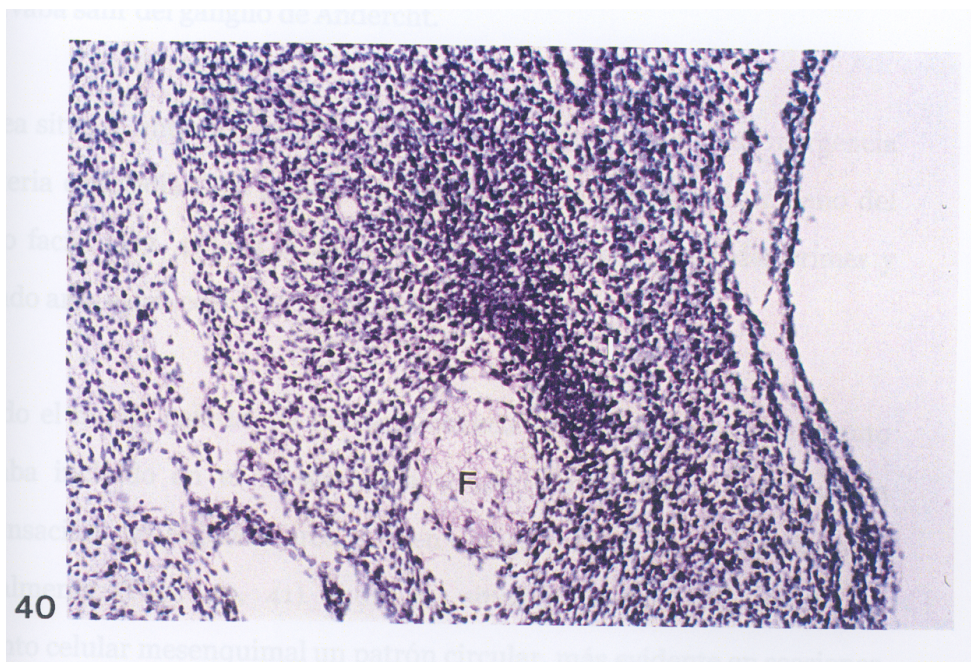
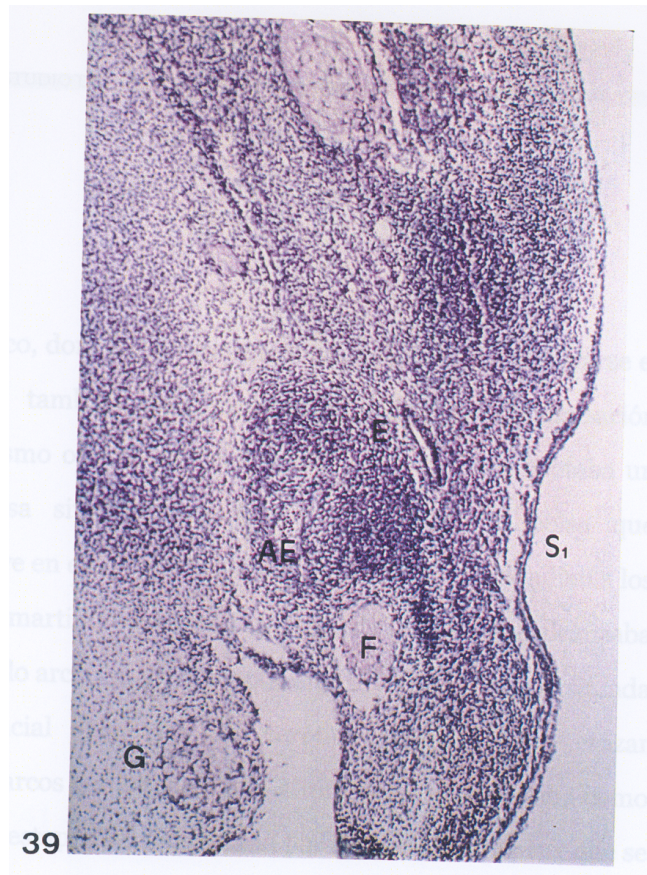
En secciones inmediatamente más caudales a las anteriores, fue observado bajo la vena y el nervio facial, a la arteria estapedia, que se disponía sobre la pared ventrolateral de la condensación, que por este motivo adoptaba una forma arriñonada en cuyo hilio se encontró la arteria estapedia (Fig. 37). La arteria parecía dividir a la condensación en dos áreas, una ventromedial y otra dorsolateral que aparecían más claras cuando la arteria se situaba en el centro, separando ambas (Figs. 37, 38). El área dorsolateral de este anlage estapedial se disponía en contacto con el nervio facial. Todos estos elementos fueron observados en un área o zona dorsal al extremo craneal de la primera bolsa, por tanto en el segundo arco branquial y lateralmente a la vesícula ótica.

Al lado del nervio mandibular, también se localizó lateral y dorsal a este último la condensación mesenquimática del primer arco que dará lugar al cartílago Meckel y una pequeña arteria situada medial a ella que fue interpretada como otra de las ramas de la arteria estapedia, arteria mandibular (Fig. 38), estructuras situadas ventrolateral a la primera bolsa y por tanto en el primer arco.



La arteria estapedial presentaba un recorrido en el centro de la condensación estapedial por lo que prácticamente queda dividida en dos áreas, aunque se observó un puente celular a nivel dorsal. La condensación dorsolateral en íntima relación con el nervio facial y con una morfología al corte más irregular (Fig. 38). Entre los nervios glosofaríngeo y vago fue observado un ramito nervioso anastomótico. El nervio petroso superficial mayor apareció como una ramita aislada situada ventral al anlage estapedial.

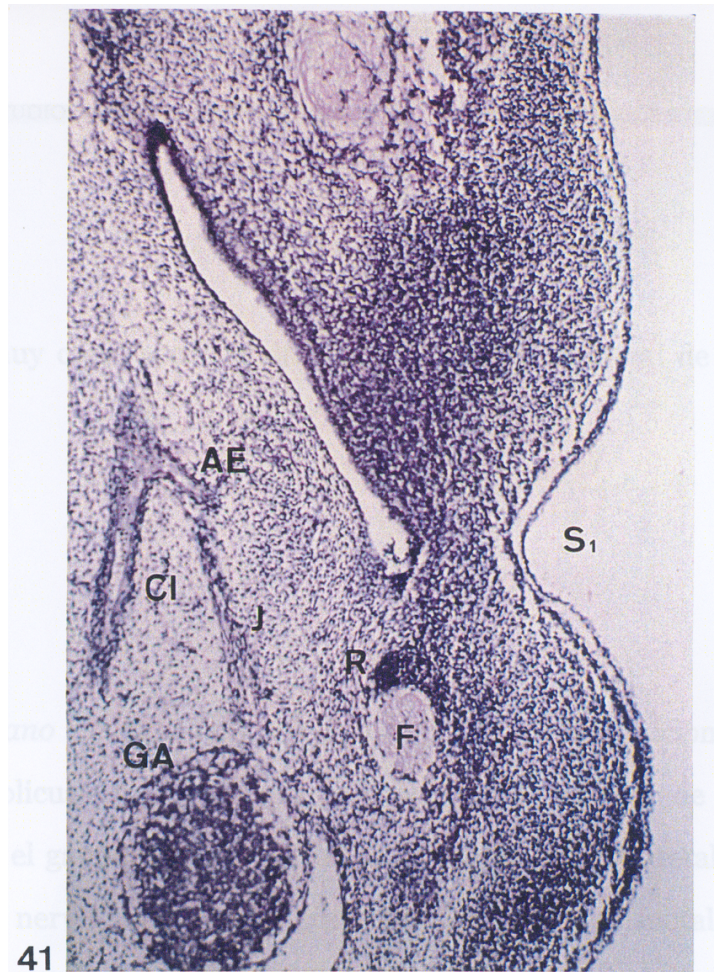
La arteria estapedial en dirección descendente, se dispone y pasa a través de la condensación mesenquimal, de tal manera que la mencionada arteria se encontraba en la porción dorsal de la condensación, de tal forma que de nuevo adoptaba una morfología a la observada en secciones anteriores (arriñonada), más craneales, pero al contrario (como si se tratase de una imagen en espejo) (Fig. 39). El área dorsolateral del anlage estapedial situado ventral al nervio facial de morfología circular, establece continuidad con otro área fuertemente condensada, situada en vecindad al nervio facial (a manera de una vírgula), y que interpretamos como el interhial (Figs. 39, 40). Esta disposición fue observada cuando la primera bolsa faríngea era manifiesta y cuando el primer surco adoptaba la forma de una fosa, futuro conducto auditivo externo. Existe una zona delimitada entre la bolsa y el surco por donde se establecía la comunicación mesenquimal entre los dos primeros arcos (Fig. 40).



A nivel del primer arco, dorsal a la primera bolsa, además de encontrarse el nervio mandibular, también fue observado como la condensación mesenquimal del mismo ofrecía una morfología alargada y presentaba un área más voluminosa situada ventrolateral a la primera bolsa que determinaba un relieve en ella, y que en nuestra opinión correspondían a los anlagen del yunque y martillo y un área más delgada o lineal que alcanzaba dorsalmente al segundo arco y más concretamente a la condensación situada ventral al nervio facial (Fig. 41). La carótida interna tras cruzar medialmente los dos arcos y al situarse a la altura del segundo, daba como rama lateral la arteria estapedia acompañada por el nervio timpánico, que se observaba salir del ganglio de Andercht.

El área situada entre los niveles topográficos en donde tiene su emergencia la arteria estapedia (Fig. 41) y la salida del nervio cuerda del tímpano del nervio facial (Fig. 42), es la zona donde las condensaciones del primer y segundo arco establecen una continuidad.

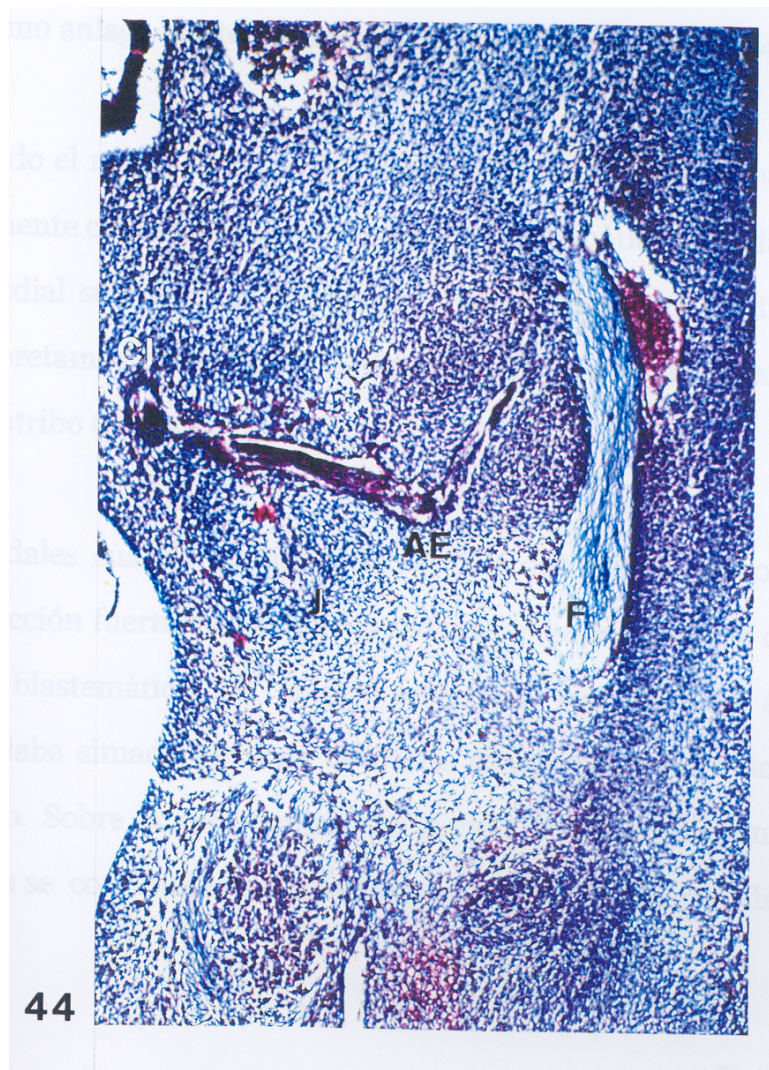
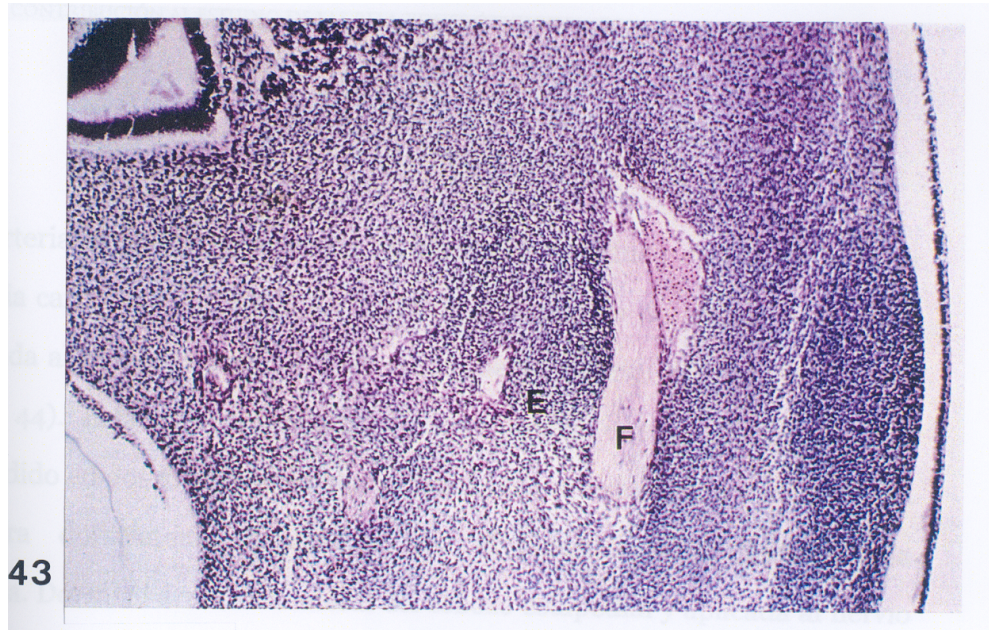
Cuando el nervio cuerda del tímpano conectaba los dos arcos y por tanto quedaba incluido en el mesénquima situado entre ambos (Fig. 42), la condensación del segundo arco que en cortes más craneales se disponía ventralmente (Figs. 40, 41) ahora se situaba medial, adquiriendo su conjunto celular mesenquimal un patrón circular, más evidente en secciones



caudales (Fig. 43), muy condensado y situado en el extremo lateral de la bolsa.

En el *embrión humano de 14.5 mm. de longitud (GV-8)* de secciones transversales muy oblicuas fue observada la porción más inferior de la vesícula ótica con en el ganglio acústico facial en su parte lateral. Lateral a estas formaciones el nervio facial en su trayecto o porción horizontal y lateral la porción del seno que constituirá el seno sigmoideo. Adyacente al nervio facial se observó el conjunto celular de morfología redondeada, descrito en anteriores especímenes, que corresponde al extremo superior de la condensación que dará lugar el estribo o anlage estapedial (Fig. 43).

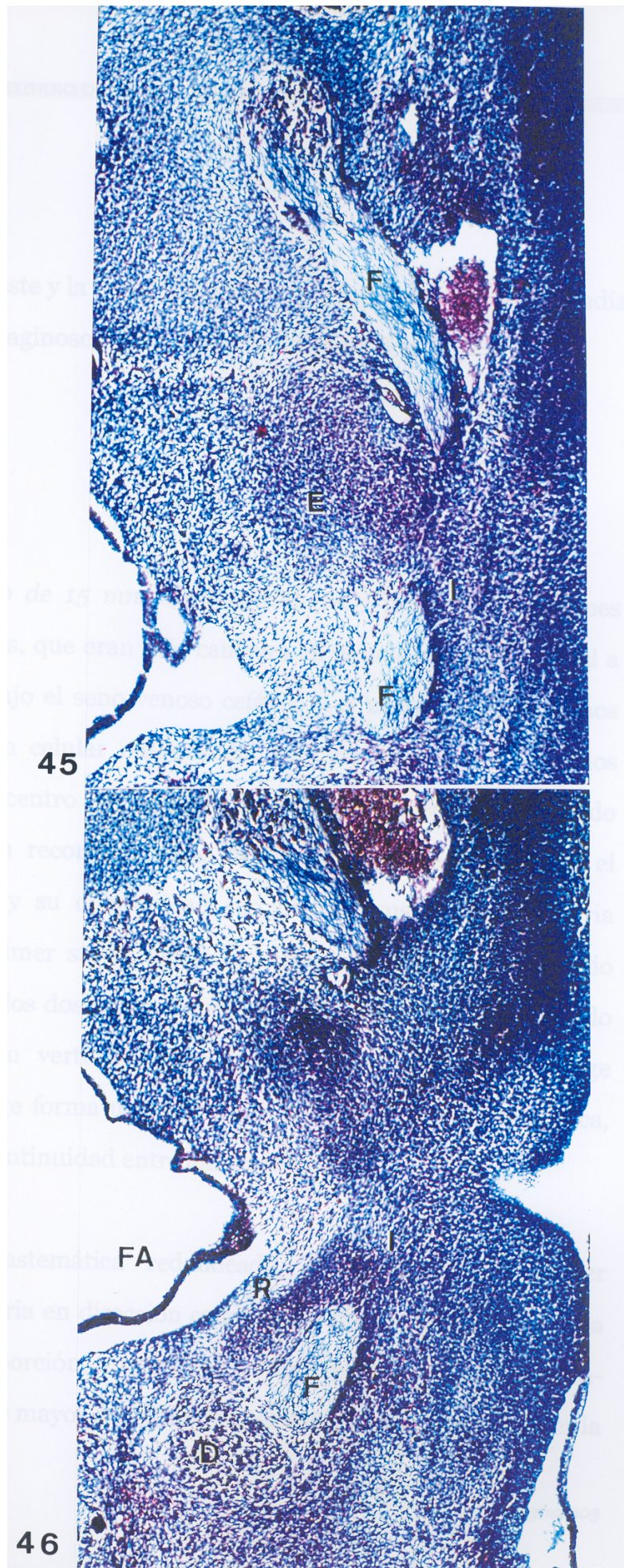
En cortes más caudales y debido a la oblicuidad de la sección, se observó como de la arteria carótida interna primitiva emerge una rama, seccionada en su recorrido, que alcanza el anlage blastemático redondeado del estribo, introduciéndose en el por su porción dorsomedial y situándose en el interior de dicho blastema (Fig. 44). Dorsal a la arteria estapedia y próximo a ella se disponía el nervio timpánico de Jacobson.



La arteria estapedial presentaba un recorrido rectilíneo en su salida de la arteria carótida, cambiando de dirección y formando un ángulo recto en la entrada al anlage estapedial. Este acodamiento arterial era muy manifiesto (Fig. 44). Esta disposición arterial determinaba que el esbozo quedara escindido en dos formaciones blastemáticas redondeadas una ventromedial y otra dorsolateral, separadas por el recorrido intraestapedial de la arteria. Dorsal al área dorsolateral del esbozo estapedial y aplicada al nervio facial se observó un mesénquima celular que contrasta con el resto y que interpretamos como anlage blastemático del músculo del estribo (Fig. 44).

Una vez seccionado el nervio facial a nivel de su porción horizontal, vemos como inmediatamente caudal a él, la condensación blastemática dorsolateral del anlage estapedial se continua lateralmente con la existente ventral al facial y que interpretamos como interhial, donde también confluye el anlage del músculo del estribo (Fig. 45).

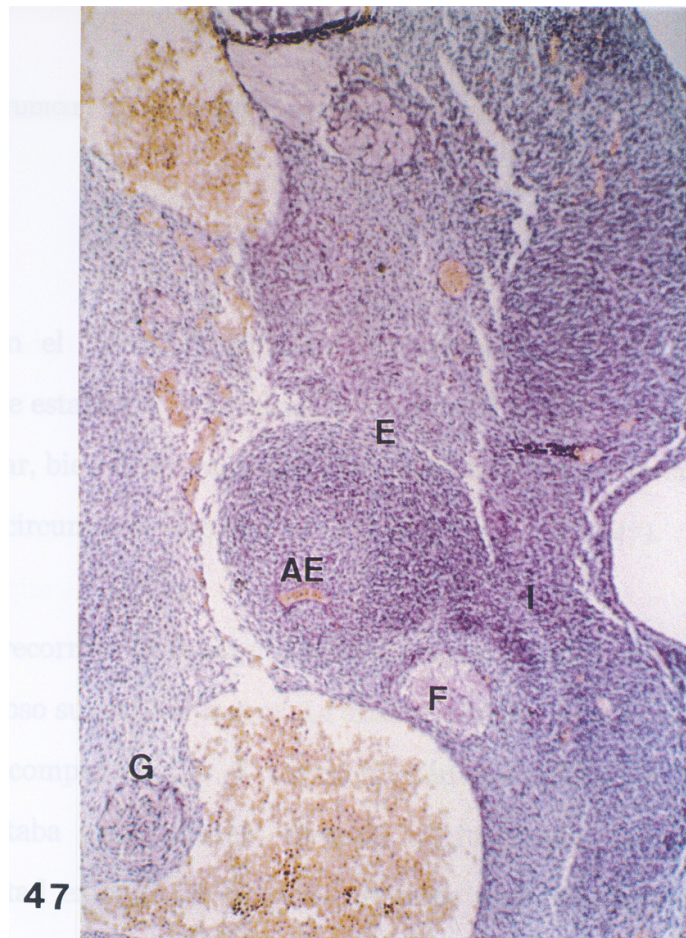
En secciones caudales cuando comienza la sección del primer surco y al tratarse de una sección fuertemente oblicua todavía se pudo observar como la condensación blastemática del anlage estapedial con las dos áreas condensadas quedaba situada cerca de la arteria estapedial, nervio facial y ganglio geniculado. Sobre la cara ventral del nervio facial, se disponía el interhial que ahora se continuaba con otra formación redondeada medial al



nervio facial, entre este y la pared del endodermo faríngeo que correspondía al blastema precartilaginoso del cartílago de Reichert (Fig. 46).

El *embrión humano de 15 mm. de longitud (NO)* presentaba secciones transversales oblicuas, que eran más caudales en el lado derecho. Lateral a la vesícula ótica y bajo el seno venoso cefálico y el nervio facial, pudimos observar una imagen celular redondeada, más evidente que en estadios anteriores en cuyo centro se disponía la arteria estapedial, observando también parte de su recorrido, como es su lugar donde penetra en el blastema estapedial y su continuidad con una de sus ramas la arteria supraorbitaria. El primer surco, amplio a manera de fosa con el epitelio engrosado, separaba los dos arcos branquiales. El nervio facial, seccionado en su futura porción vertical estaba localizado dorsolateral al anlage estapedial. Este anlage forma una estructura adyacente a la cápsula ótica, pero sin existir una continuidad entre ambas (Fig. 47).

La condensación blastemática redondeada, anlage estapedial al ser atravesada por la arteria en dirección caudo-craneal y medio-lateral, queda dividida en dos, una porción dorsolateral y otra ventromedial, identificadas como dos áreas de mayor densificación celular. El área dorsolateral es la



que se relaciona con el nervio facial. Esta condensación blastemática dorsolateral del anlage estapedial se continua rodeando al nervio facial con un área fina, triangular, bien delimitada y en claro contraste con la anterior y con el mesénquima circundante que corresponde al interhial (Fig. 47).

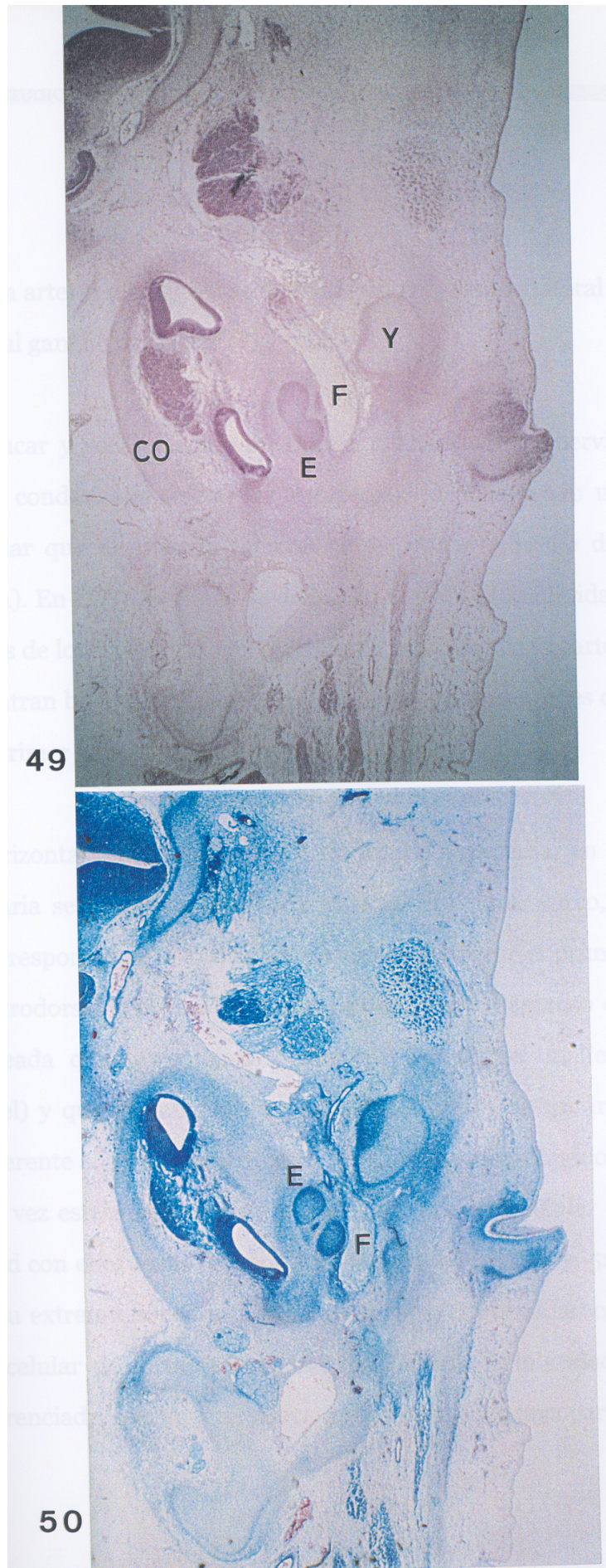
Pudimos observar el recorrido de la arteria carótida interna y sobre su lado externo el nervio petroso superficial mayor. La arteria carótida interna daba la arteria estapedia, acompañada por el nervio timpánico de Jacobson. La primera bolsa adoptaba una imagen alargada y fusiforme al corte transversal, en la mitad externa de su pared anterior una condensación blastemática protuye su luz y se prolongaba con un mesénquima entre la bolsa y el primer surco, mientras que ventralmente lo hace con un mesénquima donde las células se agrupan formando una imagen celular redondeada. Dorsal al primer surco y bolsa en el segundo arco se disponía el nervio facial (Fig. 48).

En el *embrión humano de 16 mm. de longitud V-C (CIV-2)*, la cápsula ótica se encontraba en una fase precartilaginosa, aumentando considerablemente de tamaño en relación a los estadios previos. Ventral a ella se sitúa el ganglio de Gasser (Fig. 49). Sobre la pared ventrolateral de la cápsula se observó una

condensación precartilaginosa y entre ambos un tejido mesenquimal más condensado. Cuando el nervio facial se dirigía dorsal y lateral, en su porción horizontal. Medial a este nervio destacamos la existencia de una condensación precartilaginosa (Figs. 49 y 50), continuación de la observada cranealmente y en la que se diferencian como dos formaciones redondeadas unidas por su porción central como si fuera un ocho, y que estaba situada a un nivel donde medial a ella se disponía la porción sacular del futuro oído interno. Lateralmente al nervio facial se observa otra condensación precartilaginosa que fue interpretada como anlage del yunque (Figs. 49 y 50).

Medial al recorrido, de la porción timpánica del nervio facial se situaba la arteria estapedial y como consecuencia de la disposición y trayecto de dicha arteria, la condensación adyacente quedaba dividida en dos condensaciones redondeadas una ventromedial y otra dorsolateral, la arteria se situaba en posición central entre las dos condensaciones. Asimismo la condensación precartilaginosa lateral al facial también era más nítida, diferenciándose los dos esbozos cartilaginosos correspondientes al yunque y a la cabeza del malleus.

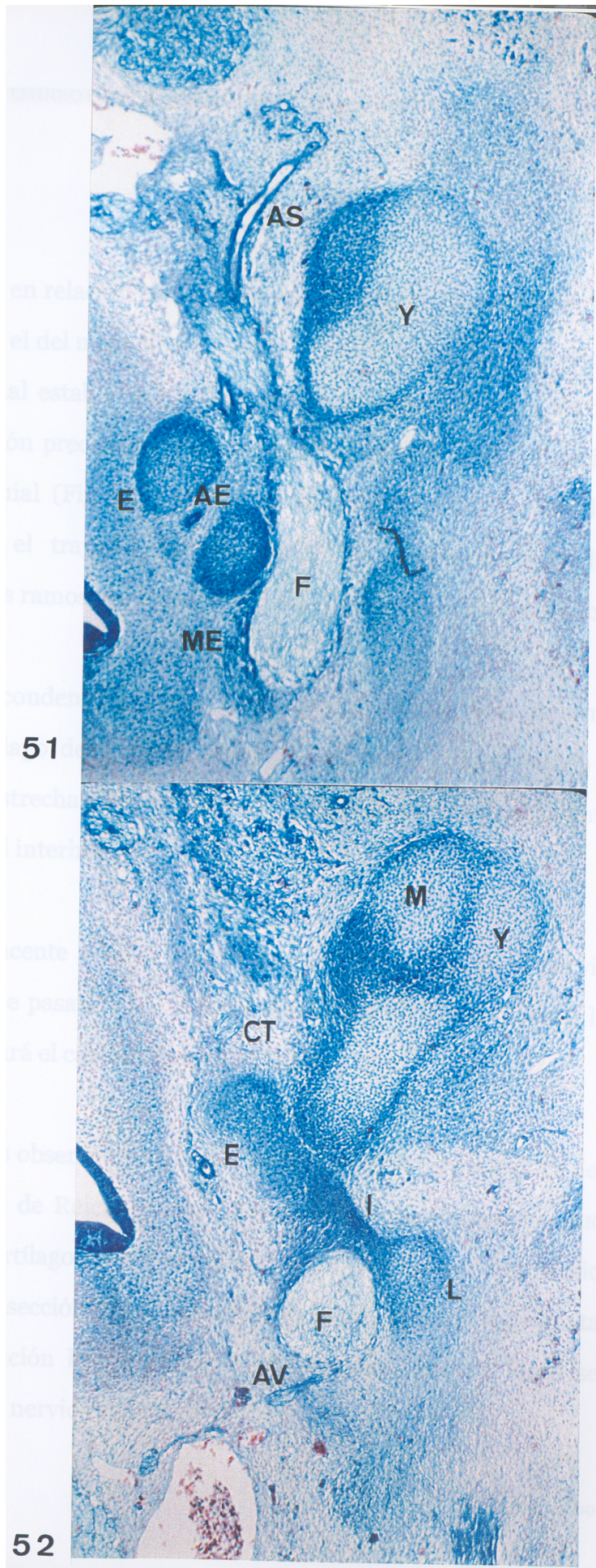
La arteria estapedial se continuaba con una de sus ramas la arteria supraorbitaria (futura meníngea media), pasando bajo la porción horizontal



del nervio facial. Esta arteria meníngea media había sido observada lateral y caudal con respecto al ganglio de Gasser (Fig. 50).

Es importante destacar y señalar como en íntima relación con el nervio facial y dorsal a la condensación posterior estapedial, fue observado un blastema premuscular que en nuestra opinión correspondía músculo del estribo (Figs. 50 y 51). En este espécimen se delimitan con absoluta claridad los anlagen o esbozos de los huesecillos del oído medio, sus diferentes partes y también se encuentran bien diferenciados los blastemas premusculares de la musculatura del primer y segundo arco.

Bajo la porción horizontal del nervio facial y la arteria estapedial, en la superficie embrionaria se observaba con toda claridad el primer surco, y como en el área correspondiente a lo que pudiéramos considerar el primer arco, aparecen ventrodorsalmente un blastema celular precartilaginoso de morfología redondeada que interpretamos como la cabeza del malleus (cartílago de Meckel) y que se encuentra en contacto a través de un área celular densa de diferente aspecto con otro blastema celular precartilaginoso (yunque), que a su vez establecía contacto a través de una área celular de diferente celularidad con el extremo inferior del anlage estapedial (Fig. 52). Este a su vez por su extremo dorsal establecía contacto o continuidad con otra condensación celular de forma triangular, de diferente celularidad y perfectamente diferenciada, que interpretamos como interhial, y cuya pared

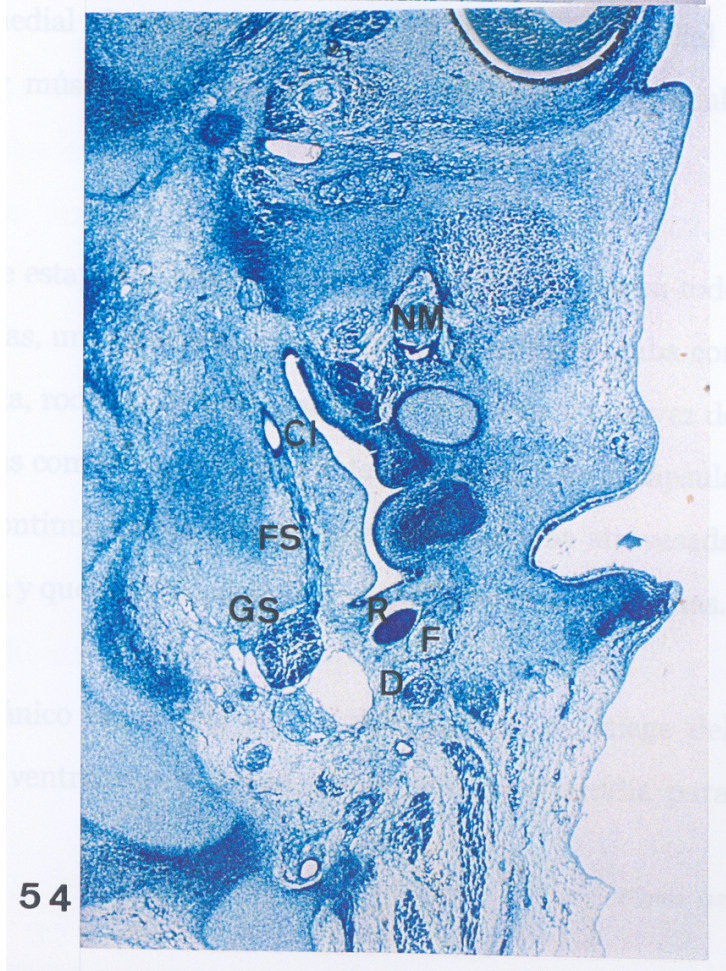
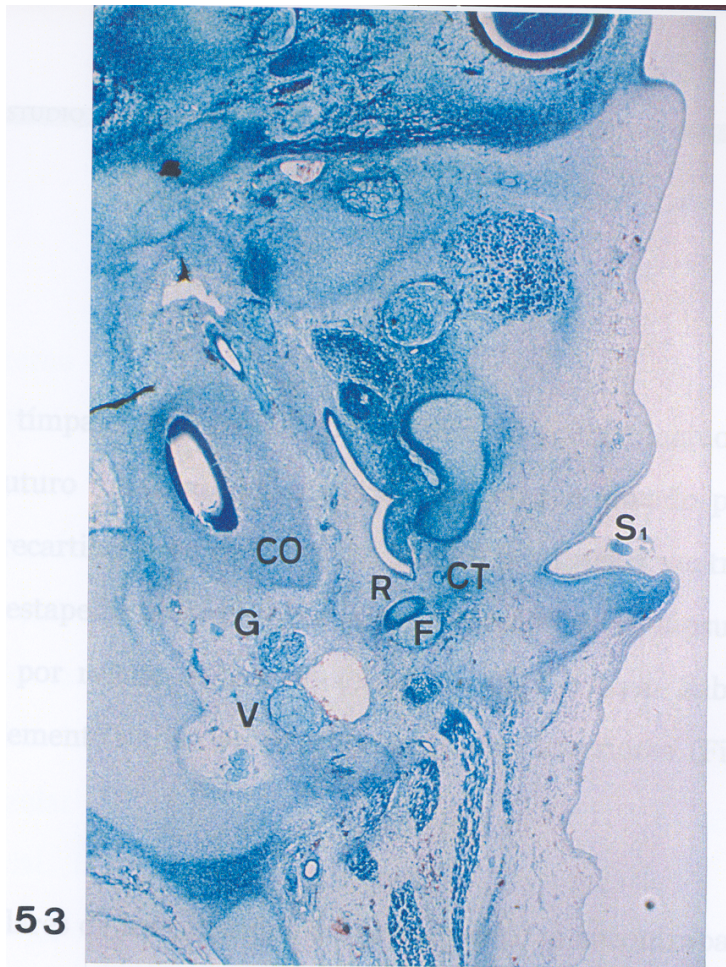


mediodorsal estaba en relación con el blastema descrito en cortes superiores e identificado como el del músculo del estribo y con el facial (Fig. 52). Dicha formación o interhial establecía contacto por su extremo afilado o vértice con una condensación precartilaginosa redondeada situada lateral al facial, denominada laterohial (Fig. 52). Medial al anlage estapedial fue posible seguir observando el trayecto intratimpánico de la arteria estapedia, acompañada de finos ramos procedentes del nervio timpánico de Jacobson.

Por tanto entre la condensación que dará lugar al estribo, y el extremo craneal del precartilago de Reichert existe un blastema indiferenciado o condensación muy estrecha que une ambas formaciones a manera de puente y que correspondía al interhial.

El nervio facial adyacente a estas estructuras estaba recibiendo el nervio auricular del vago que pasando por delante de la vena yugular a nivel de lo que será el golfo labrará el canalículo mastoideo (Fig. 52).

En secciones caudales observamos como el puente interhial entre anlage del estribo y precartilago de Reichert había desaparecido. De tal manera que caudalmente el precartilago del segundo arco, cruza por delante del nervio facial, adoptando a la sección una forma ovalada, lo que indica que presenta un trayecto o disposición horizontal, y de disponerse lateral al facial se situará medial a dicho nervio (Figs. 52 y 53).



El nervio cuerda del tímpano se disponía entre la porción precartilaginosa correspondiente al futuro ramo inferior o vertical del yunque situado por dentro y el esbozo precartilaginoso del cartilago Meckel por fuera y ventral (Fig. 52). La arteria estapedial situada sobre la condensación de la cápsula ótica y acompañada por ramos del nervio timpánico de Jacobson había reducido considerablemente su luz en relación a estadios anteriores (Fig. 52).

Los blastemas musculares de los músculos del primer arco, se encontraban bien identificados, medial al nervio mandibular, el pterigoideo medial y tensor veli palatini y músculo del martillo, lateral al nervio el músculo temporal (Fig. 53).

Por tanto, en el anlage estapedial hemos observado dos partes, que en todo momento son continuas, una es el esbozo de la base que se presentaba con una morfología ovalada, rodeada de una capa celular más laxa y a su vez de otra lámina celular más compacta, perfectamente diferenciada de la cápsula ótica y otra porción continua con la anterior que se encontraba atravesada por la arteria estapedial y que formará el anillo estapedial con sus dos ramas.

Bajo el trayecto timpánico del nervio cuerda del tímpano, el anlage del malleus era continuo ventralmente con el Meckel, que se extendía para

alcanzar la pared externa de la primera bolsa, en la que determinaba una protusión (Fig. 53). El nervio cuerda del tímpano es seccionado ventral y dorsal a esta formación y que interpretamos habida cuenta de su pertenencia al Meckel como el futuro mango del martillo. El nervio facial en relación como hemos indicado con el precartilago de Reichert, emitía unos finos ramitos dirigidos hacia el primer surco (futuro conducto auditivo externo), que se había hecho más profundo. Medialmente al facial se situaban la vena yugular y los nervios glosofaríngeo y vago (Fig. 53). Dorsalmente al facial los blastemas musculares del digástrico y esternocleidomastoideo y arteria occipital.

La arteria estapedial en este espécimen presentaba una luz que se había reducido considerablemente en relación al estadio anterior y fundamentalmente en proximidad de su emergencia de la carótida, interpretamos pues que se inicia la involución de la arteria estapedial en dicho segmento. También es factible apreciar en la diferencia de afinidad tintorial y volumen entre los precartilagos del primer y segundo arco.

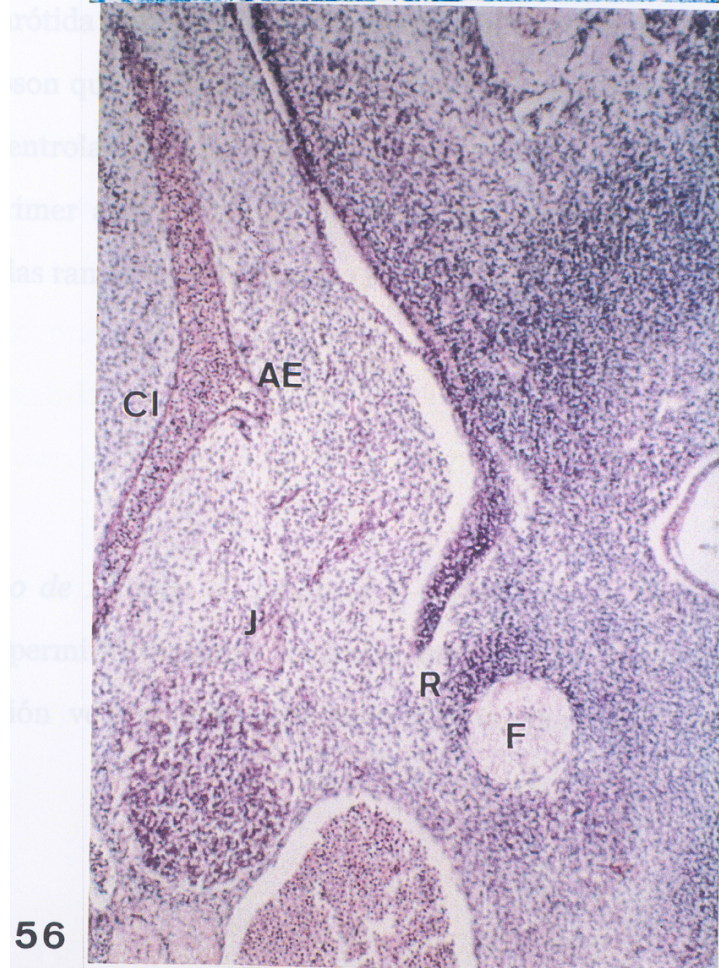
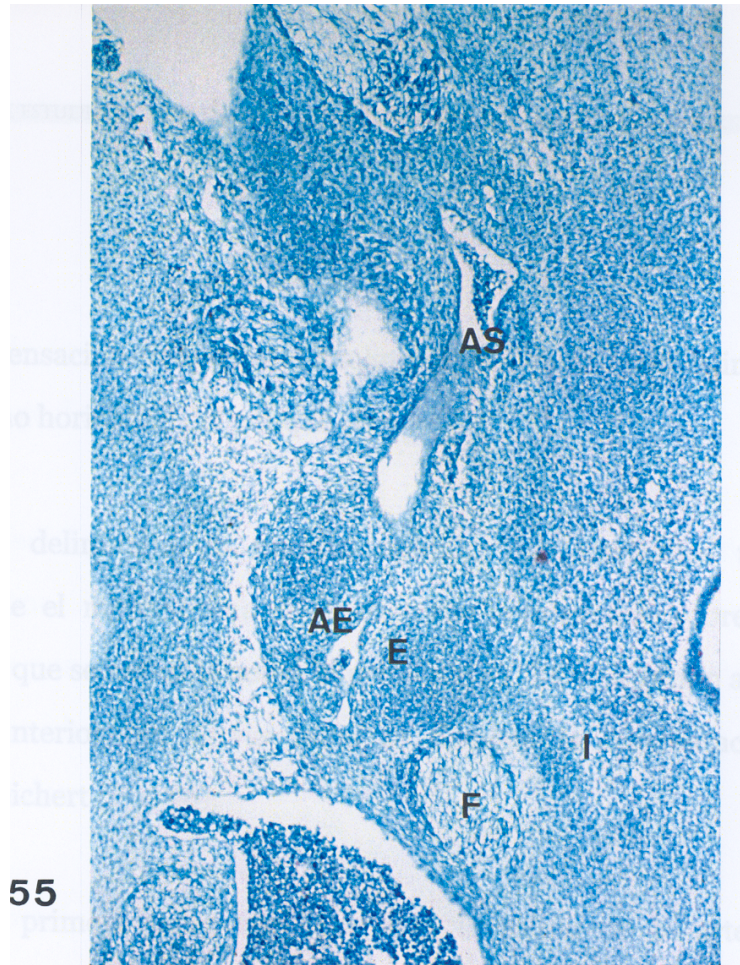
Se observó como del ganglio cervical superior del simpático salía un grueso tronco nervioso, verdadero nervio carotídeo que acompañaba medialmente a la arteria carótida interna. El mesénquima condensado perteneciente al esbozo del mango del malleus se situaba entre el fondo del primer surco, dispuesto como una fosa, y el entoblasto de la primera bolsa (Fig. 54).

El precartílago de Reichert de morfología redondeada se situaba ventromedial al nervio facial. Dorsalmente al precartílago se observó el vientre posterior del músculo digástrico y la arteria occipital (Fig. 54).

En este *embrión humano de 17 mm. de longitud (PA)* fue corroborado lo observado en anteriores especímenes.

Se pudo apreciar el discurrir de la arteria estapedia y su continuación con la arteria supraorbitaria. La arteria supraorbitaria se continua pasando bajo la vena y la porción horizontal del nervio facial con la arteria estapedia por lo que la presencia de esta arteria hace que la condensación, anlage estapedial, continuo con el observado cranealmente quede dividido en dos áreas ventromedial y dorsolateral (anlage de las crus estapediales), esta ultima en relación con el nervio facial (Fig. 55).

La condensación dorsolateral se continua con una formación celular más estrecha situada por delante del nervio facial (interhial). A este nivel podría identificarse según lo observado en fases previas el blastema que formaría el yunque, llegando a identificarse un área de diferenciación celular más



próxima a la condensación estapedial dorsolateral que en nuestra opinión corresponde al ramo horizontal del yunque (Fig. 55).

La primera bolsa delimitaba en nuestra opinión dos territorios uno ventrolateral donde el mesénquima se encontraba condensado sobre la pared de la bolsa y que se extendía sobre el primer arco. En el segundo arco y sobre la cara anterior del nervio facial se dispone la condensación blastemática del Reichert (Fig. 56).

Medialmente a la primera bolsa fue observada la salida de la arteria estapedia de la carótida interna, donde apreciamos ramitas del nervio timpánico de Jacobson que se dirigen hacia la pared dorsal entoblástica de la primera bolsa. Ventrolateral a la primera bolsa aparecía la condensación blastemática del primer arco así como el nervio mandibular y la arteria mandibular una de las ramas de la estapedia (Fig. 56).

El *embrión humano de 18 mm. de longitud V-C (MAR-2)*, la tinción de Bielschoswsky, nos permitió confirmar con absoluta claridad como medial a la futura disposición venosa cefálica y lateral a la vesícula ótica, aparecía

una imagen ovalada en claro contraste con el mesénquima que la rodeaba dependencia o anlage de la futura cápsula ótica (Fig. 57).

Cuando el nervio facial presentaba en su trayecto horizontal una dirección ventrodorsal, la formación correspondiente al anlage estapedial adoptaba un dispositivo anillado por el paso de la arteria estapedial (localizada medial al nervio facial), determinando que el anlage quede dividido en dos, una ventromedial y otra dorsolateral.

La condensación dorsolateral del anlage estapedial ahora era continua con el interhial situado ventral al nervio facial.

En la superficie embrionaria el primer surco adoptaba la forma de una fosa. Sobre la pared lateral de la primera bolsa, adyacente a ella aparecía una condensación alargada, incluida y perteneciente al primer arco, anlage del malleus y por tanto precartilago de Meckel. El precartilago de Reichert ofrecía una forma ovalada con motivo del corte oblicuo y el nervio facial con una de sus ramas el nervio cuerda del tímpano en su trayecto hacia el primer arco (Fig. 58).

Dorsalmente al precartilago de Reichert se disponía el blastema premuscular del vientre posterior del músculo digástrico, atravesado por



una rama procedente del nervio facial que finalizaba en el nervio glossofaríngeo y que interpretamos como el asa de Haller.

Se observó en este espécimen todo el trayecto del precartílago de Reichert continuando la dirección que posee la parte más caudal del segundo arco relacionándose con el nervio glossofaríngeo situado caudal a él.

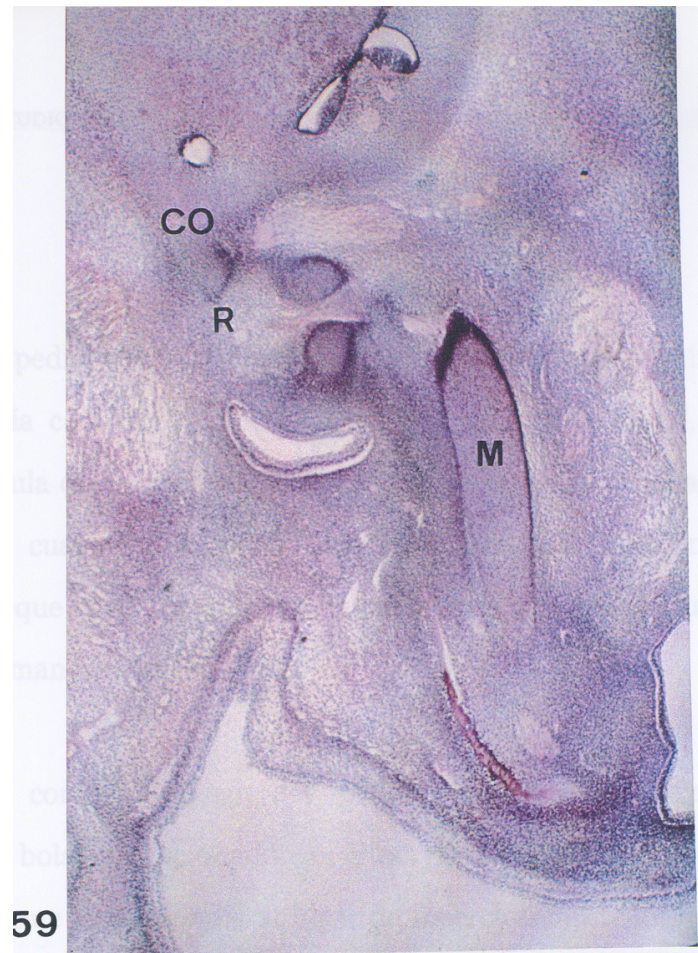
El *embrión humano de 19 mm. de longitud V-C (PR)*, nos ofreció una perspectiva nueva ya que las secciones eran sagitales. El estudio fue realizado desde las secciones más laterales de la futura región del oído medio donde los primeros anlagen de los huesecillos en aparecer correspondían a los blastemas precartilaginosos del yunque y martillo los cuales establecen contacto entre sí mediante la interposición de un área celular más condensada, que fue considerado como el inicio de la interzona.

La disposición sagital de las secciones determinó que el extremo del ramo horizontal del yunque, cuyo anlage y morfología se encuentran bien delimitados, al confluir en el área o zona donde también lo hace, pero en un nivel más medial (por este motivo no se apreciaba), el anlage del estribo en su extremo lateral (aquel que determinará la cabeza), y donde confluye

también el interhial, hace que el ramo horizontal del yunque diera la impresión de continuarse dorsalmente, mediante la citada conexión celular con el extremo craneal del precartilago del Reichert, que a su vez se encuentra confundido con una o prolongación lateral e inferior que emite la cápsula ótica (Figs. 59 y 60). Estos elementos se encontraban al lado del nervio facial, lo que identifica dichas estructuras, así como la topografía correspondiente.

Se observó también el esbozo precartilaginoso del mango del malleus y en vecindad el nervio cuerda del tímpano (Fig. 60). En el arco mandibular seccionado sagitalmente se observaba el precartilago meckeliano y en su región más anterior también destacaba la osificación intramembranosa de la mandíbula (Fig. 59).

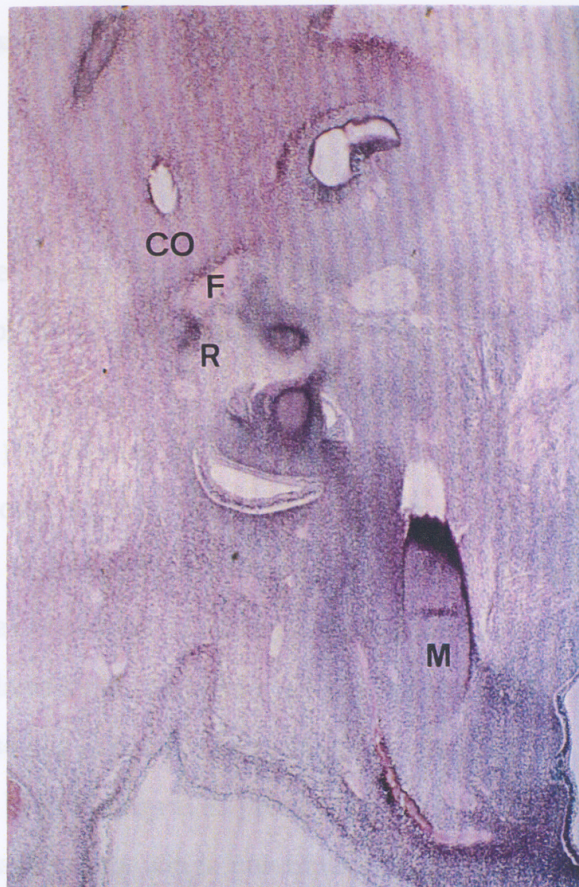
En las secciones sagitales más mediales, entre la cápsula ótica y la primera bolsa se observaron las estructuras que darán lugar al oído medio. Hemos de destacar que aquel relieve o protusión o bien prolongación lateral e inferior de la cápsula ótica ahora desaparece, lógicamente pues progresivamente nos dirigíamos hacia la línea media y por ello ahora la sección interesaba el lugar donde el interhial establecía conexión con el extremo craneal del precartilago de Reichert, determinado por un conjunto celular de gran afinidad tintorial. Además todavía en estas secciones fue posible determinar parte del interhial que establecía continuidad con el extremo lateral, bien



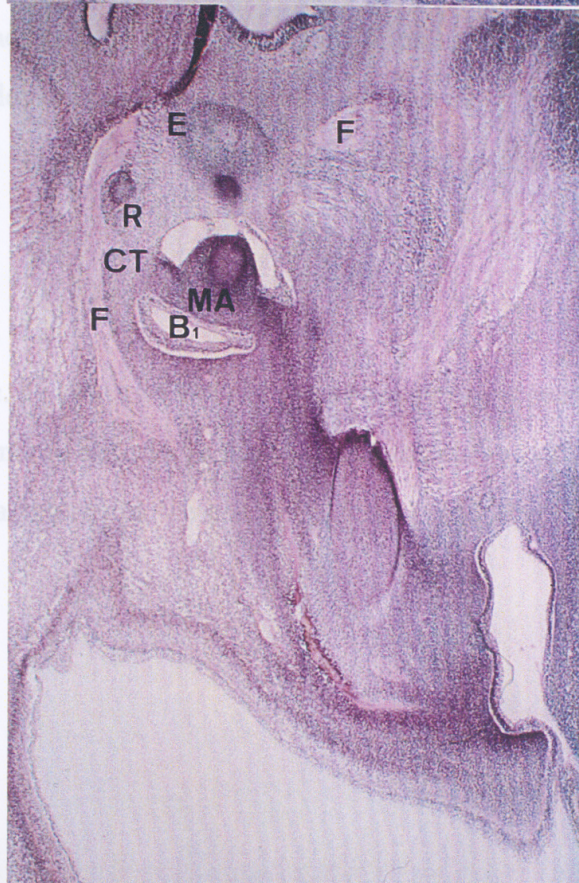
visible del anlage estapedial y del extremo asimismo del ramo horizontal del yunque que establecía conexión con ellos (Fig. 61). El nervio facial, en proximidad a la cápsula ótica, seccionado en dos porciones y entre ellas el anlage estapedial, el cual se relacionaba con la arteria estapedia, muy reducida de volumen que podía verse la continuación con una de sus ramas terminales, la arteria mandibular (Fig. 61).

Destacamos también como al mango del malleus, próximo al extremo craneal de la primera bolsa y relacionado con el nervio cuerda del tímpano, presentaba una zona que correspondía al lugar de inserción del tendón del músculo tensor tympani, y que ofrecía un aspecto similar al que tenía el interhial (Fig. 61).

La imagen del anlage estapedial variaba en las secciones sagitales, observándose muy claramente la forma anular con la arteria estapedia en su interior, en franca regresión. El mango del martillo comenzaba a encontrarse rodeado por la primera bolsa. Mientras que el nervio facial, ofrecía una relación interesante con el extremo craneal del cartílago de Reichert, que en este lugar tiene un pequeño trayecto horizontal, y que en nuestra opinión lo utiliza para cambiar de dirección y dirigirse verticalmente (Fig. 62). Entre la primera bolsa y el precartilago de Reichert fue observada la salida del nervio cuerda del tímpano del nervio facial. En el primer arco se



61



62

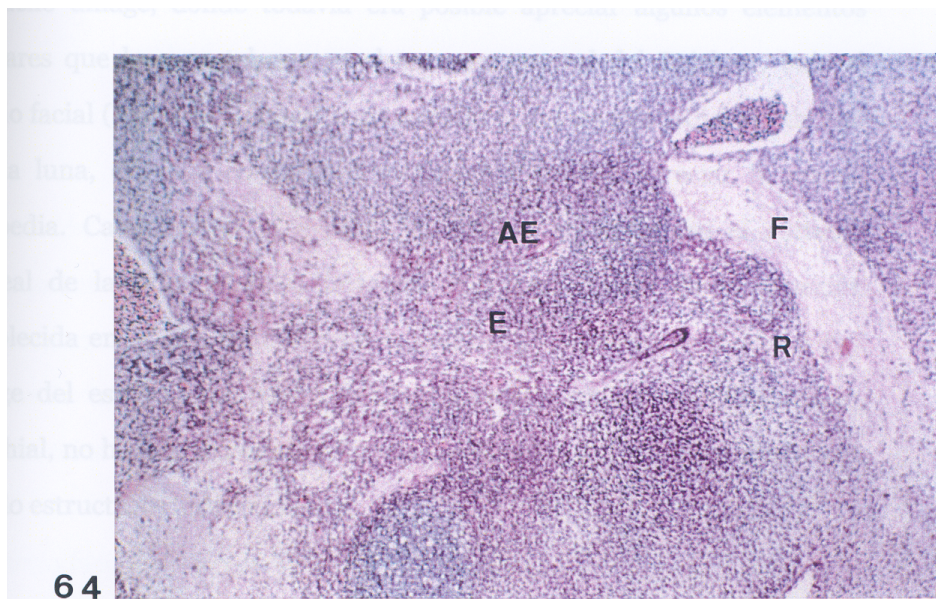
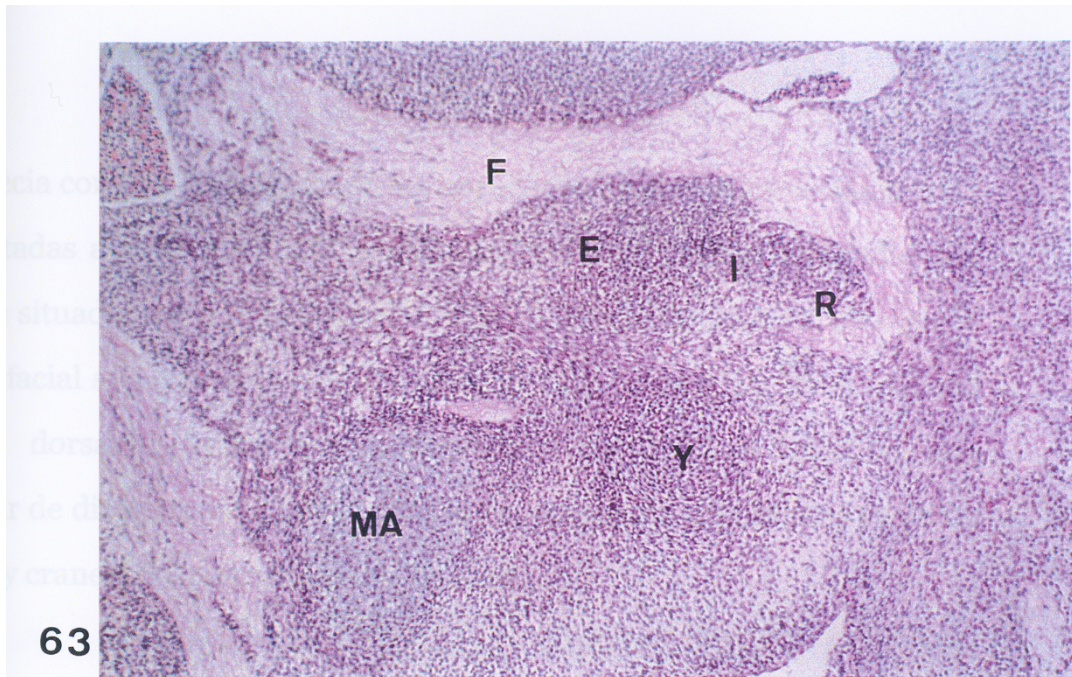
observaba todo el trayecto del nervio lingual y la llegada a el del nervio cuerda del tímpano, para establecer la anastomosis con el facial.

Hemos de hacer notar que el precartilago de Reichert, en nuestra opinión, presentaba una evolución cartilaginosa más avanzada que las que conforman el anlage stapelial. El anlage del estribo perdía su forma anillada al seccionar su área más medial, esta zona del anlage aún en contacto con la cápsula ótica se encontraba claramente diferenciada y delimitada de ella y bajo la cual se disponía en base a la expansión experimentada en relación a estadios anteriores la primera bolsa faríngea. El precartilago de Reichert de una sección que contrasta notablemente con la que muestra el precartilago meckeliano, se encuentra situado caudal la cápsula ótica y dorsal a la futura cavidad timpánica, acompañado constantemente por el nervio facial.

El embrión humano de 20 mm. de longitud V-C (BR-3), se encuentra menos evolucionado que otros especímenes anteriores. No obstante entre el yunque y el martillo se establecía una interzona, a nivel de la futura articulación incudomaleolar.

Caudal a la porción horizontal del nervio facial, fue observado un área celular que corresponde con la porción más lateral del anlage estapedial, lateral a ella aparecía una hilera celular que contactaba con el extremo lateral del cartílago de Reichert, esta conexión difícilmente identificable pues aparece en escasas secciones, correspondía en nuestra opinión al interhial (Fig. 63).

En la región del futuro oído medio, por tanto caudocranealmente desde la primera bolsa hasta la porción horizontal del nervio facial y cápsula ótica, se observaron los siguientes elementos: en primer lugar la condensación blastemática del mango del martillo, nervio cuerda del tímpano y entre este y el nervio facial existía un área donde se disponían de delante hacia atrás una condensación blastemática que formará el yunque, otra condensación blastemática muy difícil de diferenciar que se continuaba en las siguientes secciones más mediales con el anlage del estribo y otra condensación redondeada la más posterior que formará el anlage del cartílago de Reichert, entre estas dos últimas un puente celular, que fue interpretado como el interhial (Fig. 63). Esta pequeña región del oído medio embrionario, se encontraba a un nivel cuando el nervio facial emitía el nervio cuerda del tímpano, inmediatamente caudal al extremo craneal del cartílago de Reichert.



Se aprecia como la disposición de las estructuras blastemáticas condensadas comentadas anteriormente, la condensación central, anlage estapedial (de las tres situadas entre el facial y el cuerda del tímpano) determinaba que el nervio facial se adaptara a ella, formándole una concavidad, mientras que la más dorsal la utilizaba el nervio facial como polea de reflexión para cambiar de dirección y de donde salía el nervio cuerda del tímpano (porción lateral y craneal del precartilago de Reichert).

El anlage del stapes comenzaba a adoptar una forma anular, que todavía no era completa, en base a la sección sagital, que interesaba el área dorsolateral de dicho anlage, donde todavía era posible apreciar algunos elementos celulares que lo conectaban con el extremo craneal del Reichert, bajo el nervio facial (Fig. 64). La imagen que ofrecía el anlage estapedial era de una media luna, en cuya concavidad todavía era posible apreciar la arteria estapedia. Caudalmente al esbozo del estribo, se apreciaba el extremo craneal de la primera bolsa faríngea. Por tanto aparte de la conexión establecida entre el extremo craneolateral del precartilago de Reichert y el anlage del estribo, por medio del tejido celular muy poco diferenciado, interhial, no hemos observado ninguna continuidad entre ambos blastemas, siendo estructuras independientes.

El anlage estapedial adoptaba la típica forma de anillo, estribo con la arteria estapedia muy involucionada en su centro. El precartilago de Reichert

presentaba una dirección caudal acompañado por el nervio facial, ventralmente a el se observó el nervio lingual recibiendo anastomosis por mediación del nervio cuerda del tímpano. En el nervio facial se observó su origen aparente del bulbo y el ganglio geniculado. Hemos de destacar que el anlage del estribo, concretamente de aquella porción que dará lugar al anulus, se encuentra en contacto con la cápsula periótica, aunque las dos formaciones se encuentran bien delimitadas. Este hecho es semejante al observado para aquella porción del anlage estapedial que presentaba forma ovalada y que en nuestra opinión constituirá la base, donde también cápsula ótica y el mencionado anlage se encuentra en contacto, pero delimitados.

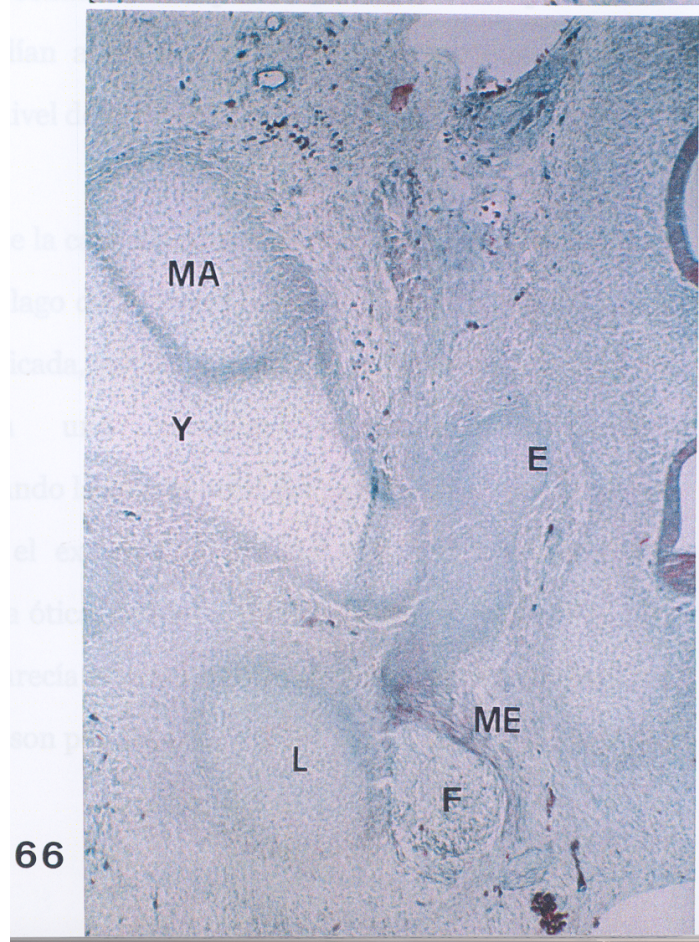
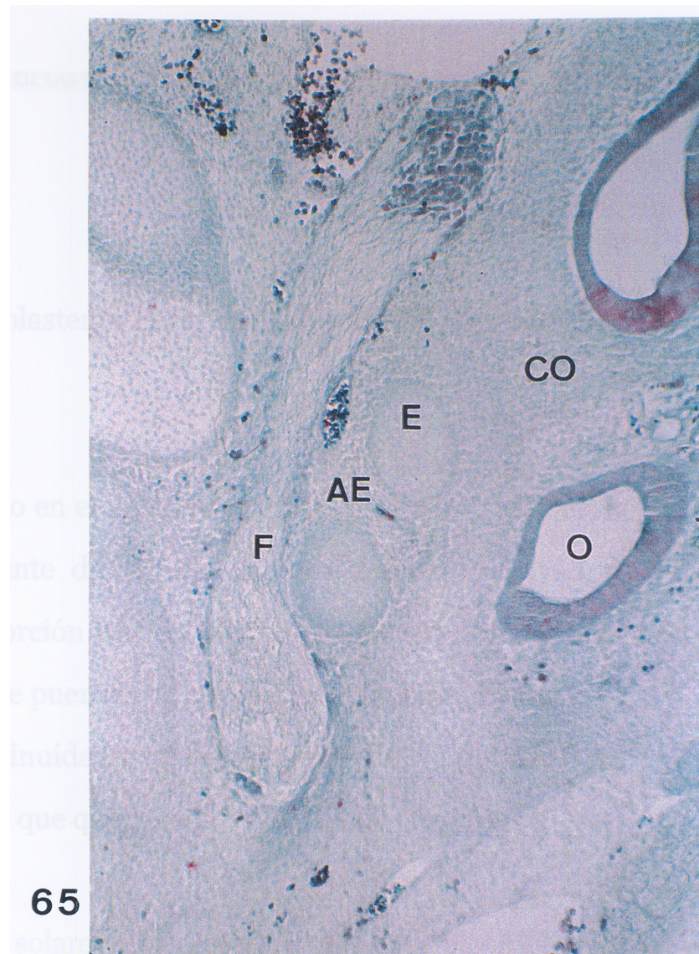
El embrión de 21.5 mm. de longitud V-C (AR), se encontraba seccionado frontalmente, de tal manera que cuando las secciones discurrían por la futura pars petrosa del temporal, donde aparecía la cápsula ótica, fue observada una condensación blastemática diferenciada claramente de la cápsula ótica pericircundante y que correspondía al anlage stapedial.

El nervio facial es seccionado en su trayecto timpánico, ofrecía a nivel de su primer codo el ganglio geniculado. Medial a el la condensación stapedial única estaba dividida en dos formaciones redondeadas, que en virtud de su

situación topográfica, una era ventromedial y otra dorsolateral, correspondían a los anlagen de las dos cruras o ramas del futuro estribo (Fig. 65). Entre las dos cruras del anlage estapedial y después de un minucioso seguimiento de la arteria estapedial, se comprobó que esta se había obliterado prácticamente en este tramo timpánico del anlage estapedial, formando el resto, el ramo timpánico de la arteria meníngea media.

Craneolateral se observa el anlage del yunque seccionado a nivel de cabeza, pues el precartilago meckeliano, a este nivel anlage del malleus establecía contacto con el mediante la interposición de una zona más condensada, futura articulación incudomaleolar, que permite la separación entre las dos estructuras. La arteria meníngea media se encontraba situada cranealmente en proximidad, pues todavía no se ha formado el tegmen tympani (Figs. 65 y 66).

El anlage stapelial, pierde su forma anular, seccionándose en su extremo lateral, que establece contacto con el futuro ramo horizontal del yunque que a su vez establece mediante la interzona, contacto con el malleus (Fig. 66). Pudimos observar como lateral al nervio facial, existía una porción lateral de la cápsula ótica que se prolongaba hacia abajo para establecer contacto con el extremo lateral y craneal del Reichert, y que se relacionaba con el nervio facial situándose lateral a él (laterohial) (Fig. 66). Medial al nervio facial y en contacto con el fue observado un blastema diferente al resto que en nuestra

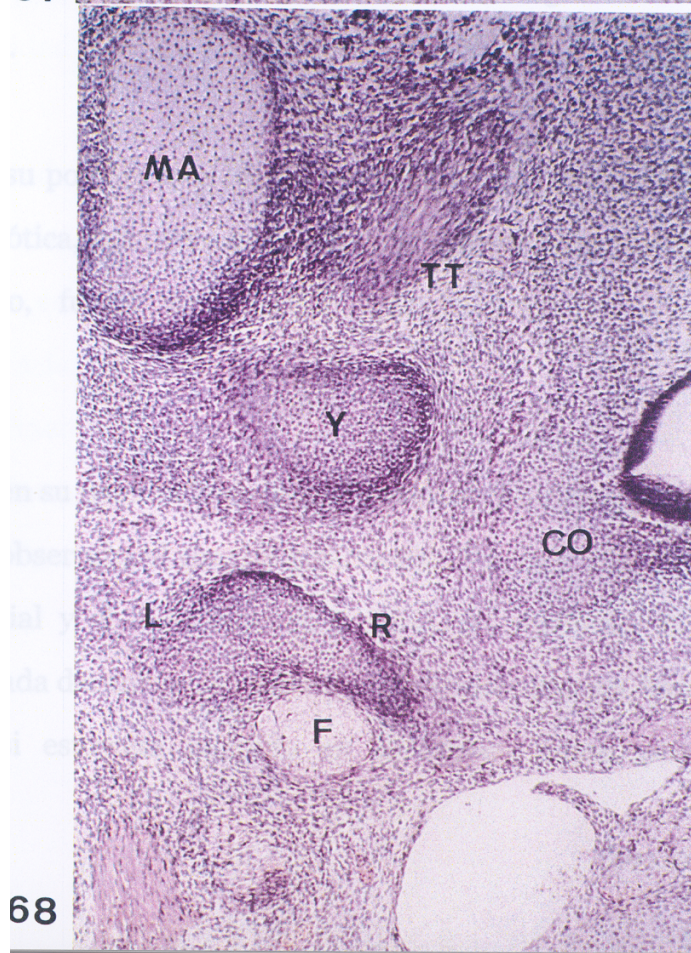
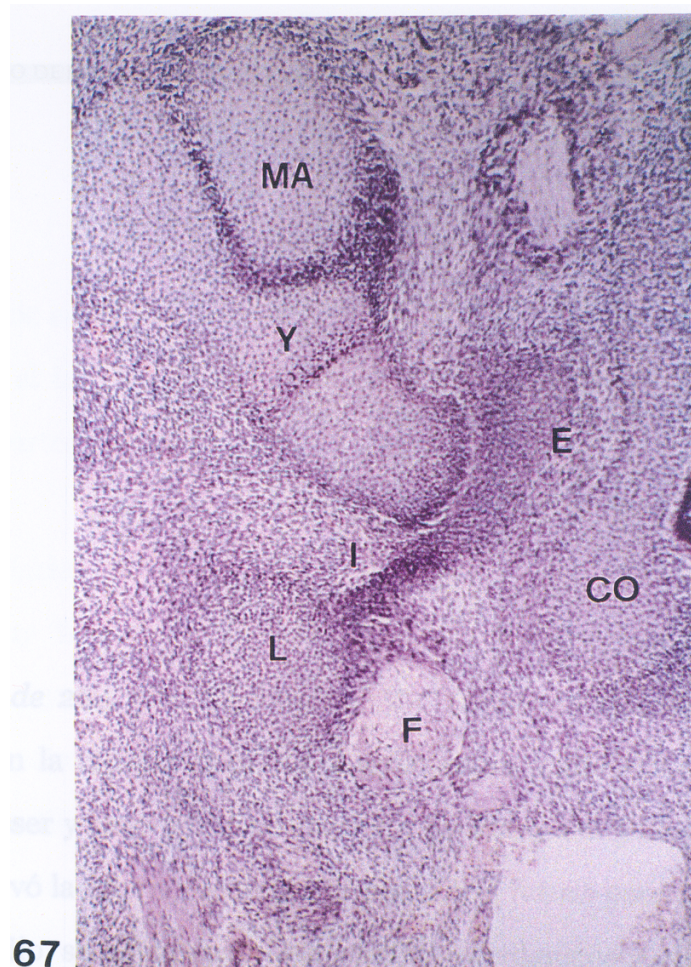


opinión correspondía al blastema muscular del músculo del estribo (Fig. 66).

Este blastema finalizaba no en el anlage stapelial sino en una condensación mesenquimal, perfectamente delimitada, situada delante y adyacente al facial, en el inicio de su porción vertical (Fig. 67). Esta estructura, interhial, estaba tendida a manera de puente entre el anlage estapedial y la zona o área donde se establece la continuidad entre el extremo craneal del Reichert y la porción de la cápsula ótica que quedaba lateral al facial (Fig. 67).

Este puente mesenquimal solamente era posible observarlo completo en las secciones que correspondían a un nivel en el que el yunque establecía contacta con el estribo, a nivel de la futura articulación incudoestapedial.

La prolongación inferior de la cápsula ótica está en continuidad con la parte más craneal del precartilago de Reichert, situado ventral al nervio facial. Este área quedaba identificada, por la disposición del extremo craneal del Reichert, que adopta una posición horizontal, dirigiéndose lateromedialmente y cruzando la cara ventral del nervio facial, por lo que en estas y otras secciones, el extremo lateral del Reichert que establecía continuidad con la cápsula ótica, quedaba situado lateral al facial (Fig. 68). A nivel del oído medio aparecía el blastema del músculo tensor tympani y el nervio timpánico de Jacobson por dentro.



En el *embrión humano de 26.5 mm. de longitud V-C (GI-4)* en aquellas secciones que interesaron la cápsula ótica, se observó como sobre ella se situaba el ganglio de Gasser y seno petroso superior y próximo a el y en la fosa crani media se observó la arteria meningeo media. En la futura porción timpánica del oído medio se observaron los moldes cartilagosos del yunque y malleus-Meckel.

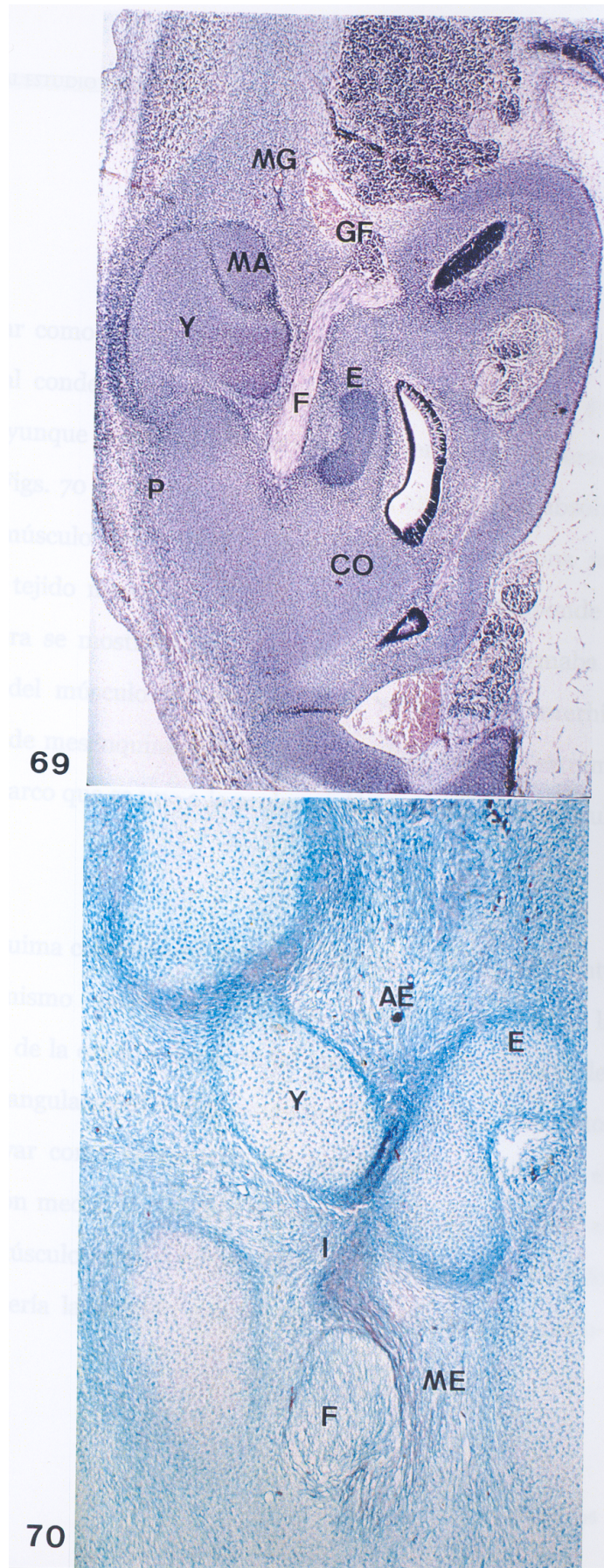
El cartílago del incus en su porción más lateral es continuo con el cartílago que organiza la cápsula ótica, mientras que entre los dos esbozos hay un mesénquima condensado, futura articulación, que corresponde a la interzona (Fig. 69).

El nervio era seccionado en su porción horizontal o porción timpánica, y con el primer codo donde se observaba el ganglio geniculado (Fig. 69). Medial a ellos entre el nervio facial y el oído interno, a nivel del vestíbulo, fue observada la imagen ovalada del anlage del estribo, a nivel de la platina, bien diferenciada y como si estuviera incluido en la cápsula ótica, pero

fácilmente diferenciable de esta última formación (Fig. 69). Medial al anlage estapedial, entre éste y el laberinto membranoso existía una fina lámina celular de mesénquima perteneciente a la cápsula ótica.

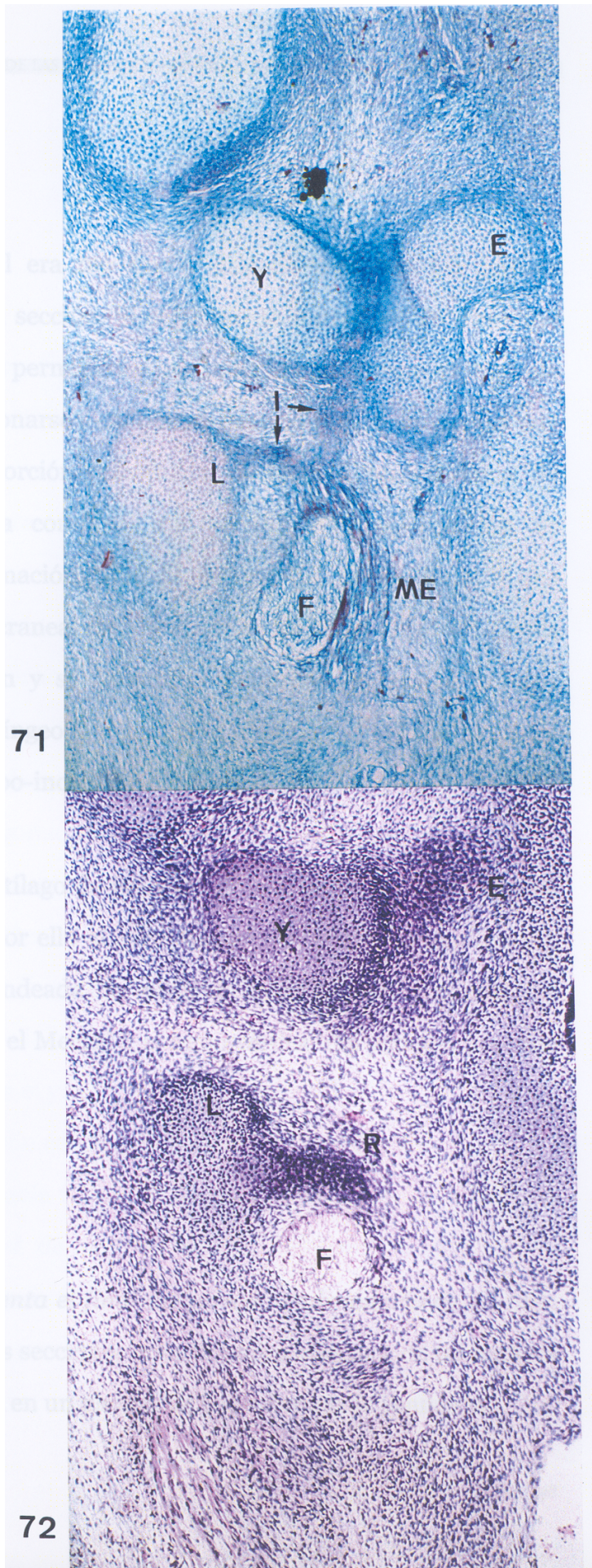
Tras seccionar el nervio facial en su porción horizontal, se comprobó como la arteria estapedial muy fina de calibre quedaba entre estos moldes cartilaginosos del yunque y martillo y el nervio facial, este segmento no llegará a involucionar totalmente, para formar el ramo timpánico de la arteria meningeo media. El ramo horizontal del yunque, bajo el facial, llegaba a establecer contacto con el anlage del estribo, donde se apreciaban los relieves de los dos ramos y entre ellos, el resto involucionado, prácticamente en su totalidad de la arteria estapedial (Figs. 70 y 71).

El nervio facial en el inicio de su porción vertical, presentaba medial a él, el blastema muscular ya señalado en estadios anteriores, y que correspondía al músculo del estribo y que en este estadio se hacía muy evidente. Lateral a esta porción del nervio facial fue observada como existía una zona de la cápsula ótica que cranealmente contactaba y se unía al yunque (Fig. 69) y que caudalmente se prolongaba dando la apariencia de ser un cartílago independiente o aislado (Fig. 70), corresponde a la crista parótica.



Se pudo comprobar como existe un área de contacto a través de un fino tejido mesenquimal condensado, entre el anlage estapedial (a este nivel futura cabeza) y el yunque (a este nivel futura apófisis lenticular), interzona incudoestapedial (Figs. 70 y 71). En estos estadios se apreció con absoluta claridad como el músculo del estribo se continuaba con una zona más condensada. Dicho tejido mesenquimal, muy condensado, corresponde al interhial y que ahora se mostraba con absoluta claridad que formaba el anlage del tendón del músculo del estribo (Figs. 70 y 71). El interhial formaba un puente de mesénquima condensado, tendido entre el extremo craneal del segundo arco que se une a la prolongación inferior de la cápsula ótica.

El puente de mesénquima condensado en tres secciones caudales, por tanto prácticamente al mismo nivel, se extendía lateralmente hasta la prolongación inferior de la cápsula ótica, de tal manera que el músculo del estribo se fijaba en la angulación del citado mesénquima (Fig. 71). Por tanto, hemos podido observar como el músculo del estribo se insertaba en el interhial, en su porción media, por lo que la parte de este que va desde el lugar de fijación del músculo hasta el stapes, formará el tendón del músculo del estribo, el resto sería la porción que se fija en la continuidad ótico-laterohial.



Este puente mesenquimal era tan fino y delgado que solo fue posible observar completo en una sección. El seguimiento minucioso en dirección caudal de las secciones nos permitió ver que inmediatamente que el músculo del estribo dejaba de seccionarse y del puente mesenquimal solo restaba una pequeña parte fija a la porción más caudal de la prolongación ótica. Se demostró como esta, era continua, sin percibir ninguna solución de continuidad con otra formación, ubicada delante del nervio facial y que correspondía al extremo craneal del cartílago de Reichert (Fig. 72). Estos elementos se relacionaban y se disponían ventral y laterales a la vena yugular y nervios glossofaríngeo y vago. En el oído medio todavía se podía observar la interzona estribo-incus.

El extremo craneal del cartílago de Reichert situado ventral al nervio facial se dirigía hacia dentro y por ello al corte transversal adoptaba una imagen alargada, en vez de redondeada. Se observó como el nervio cuerda del tímpano se disponía entre el Meckel y el ramo vertical del yunque, pasando entre ambas estructuras.

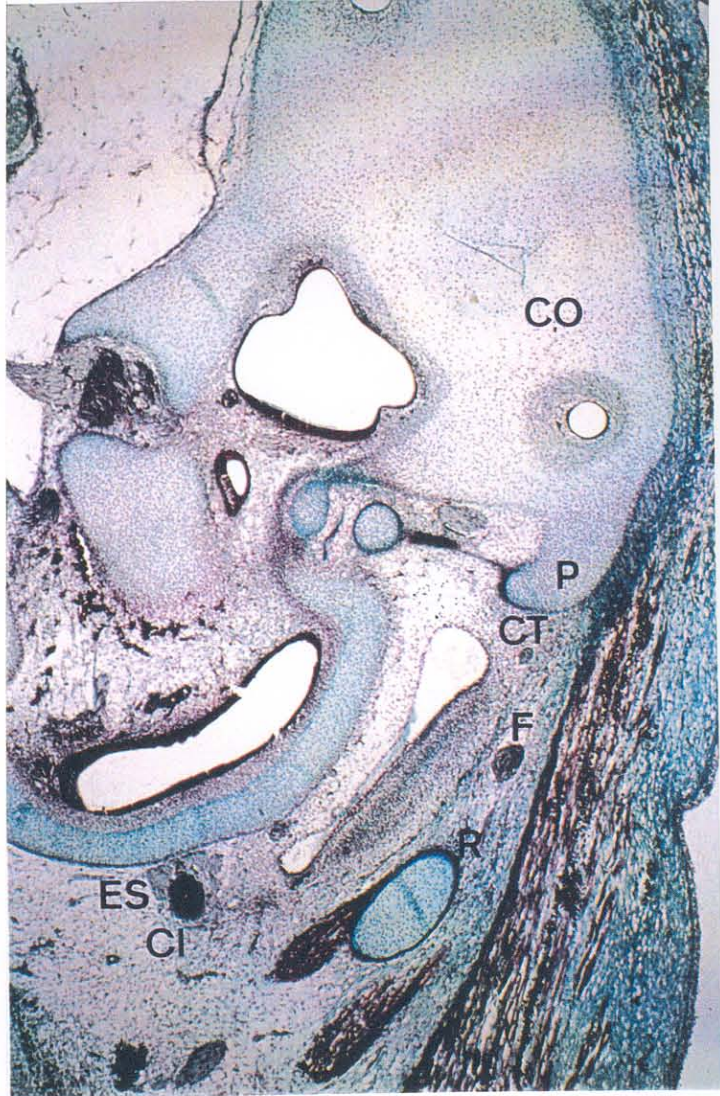
En el *embrión que representa el final del periodo embrionario de 28 mm. de longitud V-C (BR-4)*, las secciones eran frontales oblicuas, de tal manera que la sección derecha está en un plano más posterior que la izquierda.

Caudal a la cápsula ótica se observa la futura cavidad timpánica que es continua con el receso faringotimpánico, futura tuba. Bajo la cápsula ótica se encontraba la arteria carótida interna rodeada por el plexo simpático pericarótideo y próximo y craneal al conducto tubárico, algunas ramas del nervio timpánico de Jacobson (Fig. 73).

El nervio cuerda del tímpano que se localizaba entre la cápsula ótica y el extremo superior y más externo de la cavidad timpánica.

En el oído medio se observaron una serie de detalles de enorme importancia. Una de las porciones del estribo, futura base, se disponía a nivel del área de la ventana oval, a manera de tapón. Entre ella y el oído interno, existía un área perteneciente a la cápsula ótica, formado por tejido mesenquimal. Por otro lado se podían apreciar los restos de la arteria estapedial, ya prácticamente inexistente. Entre el estribo (zona que en cortes anteriores se articulaba con el yunque) y que corresponde a la futura cabeza, salía un tejido (condensación celular) de cualidades fibrosas, que grueso en la fijación estapedial, se hacía fino lateralmente, para terminar muy fino, casi imperceptible, a nivel de la cara interna del extremo craneal del Reichert, lateral al nervio facial (laterohial) y que era continuo con la prolongación inferior que presentaba la cápsula ótica en su parte lateral (crista parótica). Estas dos estructuras cartilaginosas establecían una

continuidad manifiesta sin percibir separación o delimitación claras entre ambas (Figs. 73 y 74). El elemento fibroso de unión fue interpretado como el interhial, siendo únicamente su segmento medial el que constituirá en nuestra opinión el tendón del músculo del estribo.



73



4

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

El cartílago de Reichert, ha sido clásicamente interpretado como una estructura cartilaginosa continua que da lugar a formaciones tan dispares como puedan ser el estribo del oído medio o los cuernos menores del hueso hioides, como señalan los textos de embriología humana (Hamilton-Mossman, 1975; Corliss, 1979; Sperber, 1989; Sadler, 1996; O’Rahilly y Müller, 1996; Abramovich, 1997; Moore y Persaud, 1999).

El cartílago de Reichert en el oído medio, se le ha relacionado con el estribo, pues se considera que este huesecillo deriva total o parcialmente de este cartílago. En nuestras observaciones realizadas en el periodo embrionario, abarcando todos los estadios de manera secuencial y sin hacer omisión de ninguna fase, pudimos observar como a los 6 mm. de longitud V-C, existe un área situada entre el segmento cefálico de la vena cardinal anterior y el anlage de la porción más inferior de la vesícula ótica, constituida por un mesénquima indiferente.

A nivel del extremo más inferior de la bolsa coclear, el mesénquima situado lateral a ella se encontraba aún más indiferenciado. Se observaron con claridad los relieves, en la superficie embrionaria, del primer y segundo arco, separados por el primer surco. Por tanto, el mesénquima que

determina los citados relieves, y que se dispone lateral a la vena capitis primitiva, pertenece a la porción craneal de los citados arcos. Caudalmente a la vesícula ótica, y en el mesénquima indiferenciado se observó los nervios del primer y segundo arco, así como la arteria hioidea, saliendo de la pared lateral de la arteria carótida interna primitiva, cuando ésta se encuentra a nivel del segundo arco, y con un calibre que es aproximadamente la mitad del que posee la carótida.

En esta fase, no podemos contrastar nuestras opiniones habida cuenta que no hay descripciones efectuadas, en embriones tan precoces (Estadio 13 de O'Rahilly). Si podemos señalar que aunque el mesénquima del segundo arco estaba indiferenciado, el área craneal, aquel situado lateral a la vesícula ótica se disponía en nuestra opinión más condensado que el resto. La arteria del segundo arco o hioidea presentaba un gran calibre ofreciendo una disposición similar a la descrita en el mismo periodo por Congdon, 1922 y Padget, 1948.

En el área craneal del segundo arco, descrita en el embrión de 7 mm. de longitud V-C (Estadio 14 de O'Rahilly), se observó como las células adoptaban una disposición concéntrica, mientras que en la superficie embrionaria, a este nivel, se identificó el primer surco branquial. En nuestra opinión, esta área celular redondeada y adyacente a la vesícula, corresponde al anlage del estribo. Este blastema estapedial se apreciaba con mayor

nitidez cuando se disponía entre la pared dorsal de la primera bolsa y el nervio facial, relacionándose con el nervio petroso superficial mayor que se situaba próximo a ella. En él fue posible identificar la porción que Hanson y cols., 1962, denominaron como laterohial, y que corresponde a la parte de la masa blastemática del extremo proximal del segundo arco situada lateral al surco que determina en ella el nervio facial. Estamos de acuerdo con Hanson y cols., 1962, Cauldwell y Anson, 1942 y Altmann, 1950, cuando señalan el inicio u origen del blastema estapedial a los 7 mm. de longitud V-C. Progresivamente y en el embrión de 8 mm. de longitud V-C (Estadio 15 de O'Rahilly), las células adoptaban una disposición circular, manteniendo su morfología redondeada. La porción más inferior de esta formación estapedial corresponde al área delimitada entre la pared dorsal de la primera bolsa entoblástica faríngea ventralmente, el segmento dorsal del segundo arco arterial dorsalmente y el nervio facial lateralmente.

En este mismo periodo el segundo arco arterial había regresado, quedando únicamente su segmento de origen o proximal, a nivel de la arteria carótida interna primitiva. Si bien fue posible observar como surgía un brote arterial que comenzaba a penetrar por la porción más inferior del blastema estapedial y que fue interpretado como el crecimiento que va a experimentar el segmento dorsal del segundo arco para constituir la arteria estapedia, en este sentido estamos de acuerdo con el trabajo realizado por Orts Llorca, 1932.

El crecimiento y expansión del extremo de la primera bolsa faríngea determina que el mesénquima del segundo arco interpuesto entre ésta y el nervio facial, quede más angosto, siendo en esta área donde se formará el denominado interhial, formación descrita por Broman en 1899, y señalada igualmente por Hanson y cols., 1962. Por tanto, en nuestra opinión a los 10.75 mm. de longitud V-C (Estadio 16 de O'Rahilly), fueron posible observar los siguientes blastemas:

- 1) El blastema estapedial, localizado en el extremo proximal del segundo arco, caracterizado por ser una formación redondeada, en la que se pudieron diferenciar dos áreas continuas, hasta ahora no señaladas:
 - a) una craneal, situada medial al recorrido del nervio facial y vena cefálica primitiva y lateral a la vesícula ótica. En nuestra opinión esta parte constituye el anlage de la base o platina del estribo.
 - b) otra caudal a la anterior, de mayor tamaño y más redondeada, situada entre la primera bolsa faríngea, nervio facial y carótida interna primitiva. Para nosotros el esbozo de las ramas y cabeza del estribo.

Ambas constituyen en su conjunto, el primordio del estribo.

- 2) El mesénquima estapedial establecía continuidad lateralmente con otra condensación, muy evidente, situada ventral al nervio facial y que

interpretamos como interhial, que en parte dará lugar al tendón del músculo del estribo. (Observado en fases previas a las señaladas por Louryan, 1993, que describió a los 13-13,5 mm.)

- 3) Finalmente, el interhial era continuo con la condensación mesenquimal correspondiente al futuro cartilago de Reichert, cuyo extremo craneal situado lateral al nervio facial constituye el laterohial.

Por tanto, el mesénquima del segundo arco, aparece estructurado en tres partes que son continuas.

La arteria estapedia entre los 10,75 y 12 mm. (Estadios 16-17 de O'Rahilly), atraviesa el anlage del estribo, pasando bajo el nervio facial y la vena capitis primitiva, para continuarse con una rama arterial que se distribuye por las paredes laterales de las vesículas cerebrales, arteria supraorbitaria. Este hecho morfogénico determinó que la porción caudal, anlage del llamado por Gradenigo, 1887, annulus stapedis, quedará atravesado por el curso de la arteria estapedia y por ello en este blastema, se pudieron observar desde este momento dos áreas de condensación que corresponden a los esbozos de las ramas o crus del estribo. Por tanto, hemos de precisar que únicamente es el segmento inferior del blastema estapedial el que se encuentra atravesado por la arteria, hecho éste no mencionado por ningún autor. Por otro lado, estamos de acuerdo con Hanson y cols., 1962, en que si bien la arteria

estapedia se relaciona con el anlage estapedial en fases posteriores a la aparición de este, si podemos afirmar, que la forma anular del estribo está determinada por la presencia de esta arteria. Para Hanson y cols., 1962, la posición central que ocupa la arteria, se debe al plegamiento del lóbulo alrededor del vaso, hecho éste que no ha sido observado por nosotros. Aunque Tamura y cols., 1993, en cultivos de órgano de oídos de ratones, vieron al igual que Masuda y cols., 1987, que el estribo adquiría la forma anular sin presencia de la arteria estapedia, estas observaciones carecen a nuestro juicio de validez por cuanto la explantación se realizó en fases muy tardías, para poder comprobar realmente la influencia de la arteria en la morfología estapedial. Observaciones totalmente opuestas a las de Louryan, 1991, donde en efecto, los esbozos estapediales de los arcos hioideos explantados de ratones, tenían forma columelar y por tanto desprovistos de arco.

En cualquier caso, la arteria estapedia presentaba un recorrido que desde su emergencia de la carótida interna se dirigía craneal, lateral y ventral, para continuarse con la arteria supraorbitaria, encontrándose en su origen acompañada del nervio timpánico de Jacobson con quien forma en nuestra opinión paquete vasculo nervioso.

El esbozo blastemático del estribo es en todo momento, en nuestra opinión, independiente de la condensación mesenquimal que formará la cápsula

ótica. Esta independencia, quedó demostrada en los embriones de 13 mm., (Estadio 17 de O'Rahilly), pues es en esta fase donde se apreciaba en mayor grado el mesénquima periótico. El segmento superior estapedial en contigüidad con el mesénquima de la pared lateral de la vesícula. Por el contrario, el llamado annulus estaba más separado del extremo inferior mesenquimal periótico. En nuestra opinión, no podemos estar de acuerdo con aquellos autores que consideran que la platina del estribo (basis stapedis) procede de la cápsula ótica (Burdach, 1837; Parker, 1874; Gruber, 1877; Von Noorden, 1887; Zondek, 1894; Fuchs, 1905; Schmid, 1928) o de aquellos que interpretan la base como lámina stapedialis (Cauldwell y Anson, 1942; Altmann, 1950; Masuda y cols., 1978).

A los 13.6 mm. (Estadio 17 de O'Rahilly), la fase de condensación mesenquimal se encontraba más avanzada por lo que las distintas partes que formarán el estribo pudieron ser identificadas con mayor claridad. La porción superior, esbozo de la base, situada medial al nervio facial y claramente delimitada por su forma ovalada, en contigüidad con la cápsula ótica; las dos ramas asimismo identificables y separadas por el trayecto de la arteria estapedia, que es en este estadio cuando muestra mayor diámetro. El interhial establecía la continuidad entre el estribo, su condensación dorsolateral (futura crus posterius) y el extremo craneal de la condensación mesenquimal precartilaginosa del cartílago de Reichert. En este mismo área se observó una conexión entre el mesénquima del primer y segundo arco,

área que interpretamos constituirá el *crus longum* y *processus lenticularis* del incus. Esta área se situaba entre los niveles topográficos de donde tiene su emergencia la arteria estapedial y el origen del facial del nervio cuerda del tímpano. El *interhial* por tanto, establece un puente de unión entre el esbozo del estribo y la condensación que constituirá el cartílago de Reichert, es pues una verdadera conexión *hyoestapedial* en referencia al ligamento *hyoestapedial* de Fuchs, 1905.

A los 14.5 mm. (Estadio 18 de O'Rahilly), un hecho en la morfogénesis de esta región permitió clarificar conceptos, cual es la aparición del blastema del músculo del estribo, (Schimert, 1933, lo observó a los 18 mm.), en el área o zona próxima al *interhial*, pero disponiéndose medial al nervio facial, por lo que rechazamos las clásicas teorías de Hanson y cols., 1962, que atribuían al *interhial* como el origen de este músculo o las más recientes de Louryan, 1993.

Progresivamente la diferenciación celular determinó que a partir de los 15 mm. (Estadio 18 de O'Rahilly), se iniciará una fase precartilaginosa. Nos encontramos en el estadio III que describió Louryan, 1988, pudiendo constatar como el desarrollo del estribo y cápsula ótica siguen una cronología paralela. En este sentido, está ampliamente demostrado las influencias que el otocisto ejerce por medio de las interacciones epitelio

mesenquimales sobre el desarrollo de la cápsula ótica (Van De Water, 1981, 1987).

En este estadio, Louryan, 1993, considera que la forma de los esbozos osiculares se encuentra determinada, hecho que en nuestra opinión no ha sido observado. La arteria estapedial cruzaba claramente el molde estapedial para continuarse con la arteria supraorbitaria, que constituirá la futura arteria meníngea media. El interhial, adoptaba una forma triangular con su porción interna más gruesa, aquella que se unía a la condensación dorsolateral que constituye el esbozo del estribo, mientras que la lateral era más delgada.

A los 16 mm. (Estadio 18 de O'Rahilly), la cápsula ótica así como los esbozos de los huesecillos del oído medio y en especial el estribo estaban en una clara fase de condrogénesis o precartilaginosa, denominada por Mac Phee y Van De Water, 1985, como estadio IV o de condrogénesis inicial.

La futura base o platina del estribo comenzaba a ser rodeada por la cápsula ótica, y claramente diferenciada de la misma. No fue observada en la cápsula ótica la diferenciación celular que indicara la formación de la llamada por Hanson y cols., 1962, lámina stapedis que contribuirá a la formación de la base y ligamento anular, existiendo únicamente un mesénquima indiferenciado en contigüidad con la cara medial del primordio estapedial.

Las dos ramas eran bien visibles, pasando entre ellas la arteria estapedia, en la que se inició su involución, en el trayecto intraestapedial, segmento próximo a su emergencia de la carótida interna. La configuración de los distintos elementos del oído medio permite observarlos con mayor claridad. La cabeza del malleus, precartílagos de Meckel, se encontraba en contacto con el incus, que a su vez y en base a su *crus longum* lo hacía con la futura cabeza del estribo (*caput stapedis*). El interhial, a manera de un puente y que contrasta con el resto de estructuras no había experimentado ninguna modificación; unía el estribo con el extremo craneal del precartílagos de Reichert, a este nivel situado lateral al nervio facial. Interpretamos que es a esta porción a la que Hanson y cols., 1962, denominaron laterohial.

Caudalmente, el precartílagos de Reichert cruzaba ventromedialmente al nervio facial. Según Cauldwell y Anson, 1942, el *processus lenticularis* del incus, se desarrolla de un tejido mesenquimal situado adyacente al stapes, y separado del resto del incus, detalle éste que no ha sido observado por nosotros al igual que la continuidad incudoestapedial descrita por Hanson y cols., 1962.

A los 19 mm. (Estadio 20 de O'Rahilly), se observó con nitidez la prolongación inferior de la parte lateral de la cápsula ótica denominada crista parótica, que estaba confundida con el extremo craneal del

precartílago de Reichert, laterohial, y éste a su vez conectado por el interhial con el molde precartilaginoso del estribo. El interhial poseía un aspecto similar al que tenía el tendón de inserción del músculo del martillo. La arteria estapedia, muy reducida de volumen, fenómeno que coincide con el establecimiento del molde precartilaginoso del estribo.

Por tanto, para nosotros el laterohial corresponde al extremo curvo de Reichert por mediación del cual establece la unión con la prolongación inferior de la cápsula ótica o crista parótica.

Otro hecho interesante a destacar es la evolución cartilaginosa más avanzada que presentaba el Reichert con respecto al estribo. Esto era evidente en el segmento medio del Reichert, zona donde se encontraba rodeado por la musculatura estílea, estructuras que quizás tengan que ver con su precoz diferenciación; diferenciación que coincide con la observada por Louryan, 1988, en el ratón, por métodos histoquímicos, pero a la cual no da explicación. Por el contrario, si existe un paralelismo entre las cronologías evolutivas de la cápsula ótica y huesecillos del oído medio, en este sentido, corroboramos los datos de Louryan, 1988, encontrándonos en el estadio III o de condricificación, que es el equivalente al estadio IV o de condrogenesis inicial de Mac Phee y Van De Water, 1985.

A los 21,5 mm. (Estadio 20 de O’Rahilly), y al igual que describió Padget, 1948, la arteria estapedial prácticamente se había obliterado, en el tramo del molde estapedial, por lo que a partir de este momento, dicha arteria se escinde en dos segmentos, uno superior rama de la arteria meníngea, que formará la arteria timpánica superior y otro segmento inferior, rama de la arteria carótida interna que dará lugar a la arteria caroticotimpánica. Hemos de decir que el desarrollo anómalo de la arteria estapedial o su ausencia ha sido considerado como el factor causante de los síndromes del primer y segundo arco (Poswillo, 1973).

La delimitación de los esbozos osiculares era muy demostrativa, de tal manera que el crus longum del incus establecía contacto con el stapes y este a su vez con el interhial de Broman que lateralmente se unía con el área donde se había establecido la continuidad entre el extremo craneal del Reichert y la prolongación inferior de la cápsula ótica, situada lateralmente al nervio facial. El puente mesenquimal correspondiente al interhial, solamente era posible observarlo, a nivel de donde se formará la futura articulación incudoestapedial. El blastema muscular del músculo del estribo, medial al nervio facial, finalizaba en el interhial; por lo que insistimos en el diferente origen del músculo y tendón, al contrario de lo sugerido por Hanson y cols., 1962 y Louryan, 1993. En este sentido ya Schimert, en 1933, expresó que ambos elementos, músculo del estribo e interhial, podían confundirse fácilmente.

La prolongación inferior de la cápsula ótica estaba en continuidad con el extremo craneal del precartilago de Reichert, que adoptando una posición horizontal, se disponía lateromedialmente cruzando la cara ventral del nervio facial. En nuestra opinión es a esta porción craneal del cartilago de Reichert a la que Hanson y cols., 1962, denominaron como laterohial.

En el embrión de 26,5 mm. de longitud (Estadio 22 de O'Rahilly), se observó como el segmento o área superior del primitivo anlage estapedial, situado medial al nervio facial, adoptaba una imagen arriñonada rodeado de la cápsula ótica. Medial al estribo entre éste y el laberinto membranoso, existía un área celular perteneciente a la cápsula ótica y que en opinión de Cauldwell y Anson, 1942; Bast y cols., 1956 y Masuda y cols., 1978, forma lo que ellos denominan bajo el nombre de lámina stapedialis, ya que al resto del estribo lo llaman annulus. En nuestra opinión esta pequeña zona de la cápsula ótica es un área mesenquimal que quedará residualmente en la futura cara vestibular de la platina del estribo, para formar su pericondrio siendo por tanto su contribución mínima y en ningún caso formará la porción principal de la base, como indicara Schmid, 1928. Interpretamos que la confusión en cuanto al origen radica en la denominación de las diferentes partes del estribo, pues estos autores, asimilan la denominación de lámina stapedialis a la basis stapedis.

Por otra parte, el tramo de la arteria estapedia en su recorrido intraestapedial se encontraba obliterado. Entre los moldes cartilaginosos de los huesecillos, se disponía un tejido mesenquimal que marcaba la interzona homogénea, tanto la incudomaleolar como la incudoestapedial.

En este estadio se determinó como el músculo del estribo, medial al nervio facial en la situación que ya indicó Schimert, 1933, se continuaba con el interhial. Pero este mostraba una disposición diferente a la observada hasta hora, de tal manera que estaba angulado, fijándose el músculo estapedial en el vértice de la citada angulación, como si este hubiese traccionado de él. Esta disposición determina que en el interhial se diferencie un segmento más grueso, que comprende desde la citada angulación hasta el estribo, y otro lateral al anterior desde la angulación hasta el primitivo lugar donde el extremo craneal del cartílago de Reichert se continuaba con la prolongación inferior de la cápsula ótica. Podemos pues interpretar que no todo el interhial dará lugar al tendón estapedial, por lo que no solo no estamos de acuerdo con los autores que lo consideran en su totalidad originario del tendón (Hanson y cols., 1962; Louryan, 1993) sino con aquellos que lo atribuyen como origen del músculo (Broman, 1899; Hanson y cols., 1962).

Al final del periodo embrionario (Estadio 23 de O'Rahilly), el extremo craneal del cartílago de Reichert ofrecía una curva que corresponde al laterohial, porción que se unía claramente con la prolongación inferolateral

capsular ótica. Entre el estribo y la cara interna del extremo craneal del Reichert (lateral al nervio facial), se disponía el tejido que constituye el interhial, con dos segmentos, uno interno, grueso, futuro tendón del músculo del estribo y otro fino en franca regresión y a punto de desaparecer.

Llegados a esta fase de desarrollo, hemos de efectuar las siguientes consideraciones:

En el mesénquima del segundo arco nosotros hemos podido diferenciar craneocaudalmente las siguientes formaciones: esbozo estapedial, interhial y cartílago de Reichert.

La única relación que existe entre el extremo proximal del cartílago de Reichert y el esbozo del estribo está basada en una pieza intermedia, denominada interhial, que en parte regresará y en parte, concretamente la denominada por nosotros porción estapedial o segmento interno formará el tendón del músculo del estribo.

Para nosotros, el extremo craneal del cartílago de Reichert, no corresponde al estribo, sino a la zona que se unirá a la prolongación de la cápsula ótica, y que en virtud de sus relaciones con el nervio facial, se denominó laterohial (Hanson y cols., 1962). Ambas estructuras contribuirán en nuestra opinión a la formación del canal facial, en su porción mastoidea.

De acuerdo con nuestras observaciones, el huesecillo estribo se formará del mesénquima craneal del segundo arco, que rápidamente queda diferenciado del extremo craneal del cartilago de Reichert por el interhial, por lo que no podemos estar de acuerdo con los autores que atribuyen al cartílago de Reichert el origen del estribo (Rabl, 1887; Cauldwell y Anson, 1942; Masuda, 1978; Louryan y Glineur, 1992) y si con los que establecen esta diferencia (Siebenmann, 1897; Eschweiler, 1911; Fuchs, 1905) y por tanto el origen independiente del estribo.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El blastema estapedial se organiza del extremo proximal del segundo arco branquial.
2. El primordio del estribo se encuentra constituido por dos zonas continuas entre sí:
 - a) Una craneal, situada medial al recorrido del nervio facial y vena cefálica primitiva y lateral a la vesícula ótica, que corresponde al anlage de la base o platina del estribo.
 - b) Otra caudal a la anterior, situada entre la primera bolsa faríngea, nervio facial y carótida interna primitiva, que constituye el esbozo de las ramas y cabeza del estribo.
3. El interhial corresponde a la condensación mesenquimal, situada entre el esbozo estapedial y el cartílago de Reichert.
4. El tendón del músculo del estribo se desarrolla del segmento interno del interhial.

5. El laterohial corresponde al extremo curvo del Reichert, que establece unión con la prolongación inferior de la cápsula ótica o crista parótica.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abramovich, A. (1997).- Embriología de la región maxilofacial. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Altmann, F.(1950).- Normal development of the ear and its mechanics. Arch. Otolaryng.52: 725-766.
- Anson, B.J.; Bast, T.H. (1946).- The development of the auditory ossicles and associated structures in man. Ann.Otol. 55: 467-494.
- Anson, B.J.; Bast, T.H. (1959).- Development of the stapes of the human ear: Illustrated in Atlas Series. Quart. Bull. Northw. Univ. Med. Sch. 33: 44-59.
- Anson, B.J.; Cauldwell, E.W. (1942).- The developmental anatomy of the human stapes. Ann.Otol. 51: 891-904.
- Anson, B.J.; Hanson, J.R.; Richany, S.F. (1960).- Early embryology of the auditory ossicles and associated structures in relation to certain anomalies observed clinically. Ann. Otol. 69: 427-447.
- Ars, B. (1989).- Organogenesis of the middle ear structures. J.Laryngol.Otol. 103: 16-21.

- Bast, T.H.; Anson, B.J.; Richany, S.F. (1956).- The development of the second branchial arch (Reichert's cartilage), facial canal and associated structures in man. *Quart. Bull. Northw. Univ. Med. Sch.* 30: 235-249.
- Baumgarten, H. (1892).- Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen. *Arch. Mikr. Anat.* 40: 512-528.
- Bell, D.M.; Leung, K.K.H.; Wheatley, S.C.; Zhou, S.; Ling, K.W.; Sham, M.H.; Koopman, P.; Tam, P.P.L.; Cheah, K.S.E. (1997).- *SOX9* directly regulates the type-II collagen gene. *Nature Genet.* 16: 174-178.
- Bellus, G.A.; McIntosh, I.; Szabo, J.; Aylsworth, A.; Kaitila, I.; Francomano, C.A. (1996).- Hypochondroplasia: molecular analysis of the fibroblast growth factor receptor 3 gene. *NY Acad.Sci.* 785: 182-187.
- Benoit, J.A. (1960).- Étude expérimentale des facteurs de l'induction du cartilage otique chez les embryons de poulet et de truite. *Ann. Sci. nat. zool.* 22: 323-385.
- Broman, I. (1899).- Die Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen beim Menschen. *Anat. Hefte.* 11: 507-670.
- Burdach, K.F. (1837).- Die Physiologie als Erfahrungswissenschaft. Vol.2. Leipzig. p.545.
- Capecci, M.R. (1989).- Altering the genome by homologous recombination. *Science.* 244: 1288-1292.

- Cauldwell, E.W.; Anson, B.J. (1942).- Stapes, fissula ante fenestram, and associated structures in man. Arch.Otolaryng. 36: 891-925.
- Carlson, B.M. (1994).- Human embryology and developmental biology. Mosby Year Book. St. Louis.
- Chisaka, O.; Musci, T.S.; Capecchi, M.R. (1992).- Developmental defects of the ear, cranial nerves and hindbrain resulting from targeted disruption of the mouse homeobox gene *Hox-1.6*. Nature. 355: 516-520.
- Congdon, E.D. (1922).- Transformation of the aortic-arch system during the development of the human embryo. Carnegie Contrib. Embryol. 14: 47-110.
- Corliss, C.E. (1979).- Embriología humana de Patten. Fundamentos del desarrollo clínico. El Ateneo. Buenos Aires.
- Couly, G.F.; Coltey, P.M.; Le Douarin, N.M. (1993).- The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. Development. 117: 409-429.
- Couly, G.; Grapin-Botton, A.; Coltey, P.; Le Douarin, N.M. (1996).- The regeneration of the cephalic neural crest, a problem revisited: the regenerating cells originate from the contralateral or from the anterior and posterior neural fold. Development. 122: 3393-3407.

- D´Amico-Martel, A.; Van De Water, T.R.; Wooton, J.A.W.; Minor, R.R. (1987).- Changes in the types of collagen synthesized during chondrogenesis of the mouse otic capsule. *Devel. Biol.* 120: 542-555.
- Dreyfuss, R. (1893).- Beiträge zur Entwicklung des Mittelohres und des Trommelfells des Menschen und der Säugethiere. *Morph. Arb.* 2: 607-662.
- Dunlop, L.L.T.; Hall, B.K. (1995).- Relationships between cellular condensation, preosteoblast formation and epithelial-mesenchymal interactions in initiation of osteogenesis. *Int.J.Dev.Biol.* 39: 357-371.
- Eschweiler, R. (1911).- Zur Entwicklung des Musculus stapedius und des Stapes. *Arch. Mikr. Anat.* 77: 52-77.
- Foster, J.W.; Dominguez-Steglich, M.A.; Guioli, S.; Kwok, C.; Weller, P.A.; Stevanovic, M.; Weissenbach, J.; Mansour, S.; Young, I.D.; Goodfellow, P.N.; Brook, J.D.;
- Fraser, A. (1882).- On the development of the ossicula auditus in the higher mammalia. *Phil. Trans. Roy. Soc.* 173: 901-926.
- Fuchs, H. (1905).- bemerkungen über die Herkunft und Entwicklung der Gehörknöchelchen bei Kaninchen-Embryonen. *Arch. Anat. Entwicklungsgesch. (Suppl. Anat.)*. pp. 1-178.

- Gadow, H. (1888).- On the modification of the first and second visceral arches with special reference to the homologies of the auditory ossicles. Phil.Trans.Roy.Soc. 179: 451-485.
- Gendron-Maguire, M.; Mallo, M.; Zhang, M.; Gridley, T. (1993).- *Hoxa-2* mutant mice exhibit homeotic transformation of skeletal elements derived from cranial neural crest. Cell 75: 1317-1331.
- Goulding, E.H.; Pratt, R.M. (1986).- Isotretinoin teratogenicity in mouse whole embryo culture. J. Craniofacial Genet. Dev. Biol. 6: 99-112.
- Gradenigo, G. (1887).- Die embryonale Anlage des Mittelohres: Die morphologische Bedeutung der Gehörknöchelchen. Med. Jahrb. 83: 61-120.
- Graves, J.A.M. (1997).- Two uses for old SOX. Nature Genet. 16: 114-115.
- Gruber, J. (1877).- Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Steigbügels und ovalen Fensters. Mschr.Ohrenheilk. 11: 154-158.
- Günther, A.F. (1842).- Beobachtungen über die Entwicklung des Gehörorgans bei Menschen und höheren Säugethieren. Wilhelm Engelmann. Leipzig.
- Hanson, J.R.; Anson, B.J.; Bast, T.H. (1959).- The early embryology of the auditory ossicles in man. Quart. Bull. Northw. Univ. Med. Sch. 33: 358-379.

- Hanson, J.R.; Anson, B.J.; Strickland, E.M. (1962).- Branchial sources of the auditory ossicles in man. Part II: Observations of embryonic stages from 7 mm. to 28 mm. (CR lenght). Arch. Otolaryng. 76: 200-215.
- Hegetschweiler, J. (1898).- Die embryologische Entwicklung des Steigbügels. Arch. Anat. Physiol. 45: 37-56.
- Hough, J.V.D. (1963).- Congenital malformations of the middle ear. Arch. Otolaryngol. 78: 127-135.
- Jaskoll, T.H.; Maderson, P.F.A. (1978).- A histological study of the development of the avian middle ear and tympanum. Anat.Rec. 190: 177-200.
- Jaskoll, T.H. (1980).- Morphogenesis and teratogenesis of the middle ear in animals. Birth defects: original article series. 16: 9-28.
- Jenkinson, J.W. (1911).- The development of the ear bones in the mouse. J.Anat.Physiol. 45: 305-318.
- Kaan, H.W. (1930).- The relation of the developing auditory vesicle to the formation of the cartilage capsule in *Ambliostoma punctatum*. J.Exp.Zool. 55: 263-291.
- Kallius, E. (1910).- Beiträge zur Entwicklung der Zunge: 3.Teil.Säugethiere 1.Sus scropha dom. Anat. Hefte. 41: 173-337.
- Kingsley, J.S. (1900).- The ossicula auditus. Boston, Tufts College Series. 1-2: 203-274.

- Köntges, G.; Lumsden, A. (1996).- Rhombencephalic neural crest segmentation is preserved throughout craniofacial ontogeny. *Development*. 122: 3229-3242.
- Kurihara, Y.; Kurihara, H.; Suzuki, H.; Kodama, T.; Maemura, K.; Nagai, R.; Oda, H.; Kuwaki, T.; Cao, W-H.; Kamada, N.; Jishage, K.; Ouchi, Y.; Azuma, S.; Toyoda, Y.; Ishikawa, T.; Kumada, M.; Yazaki, Y. (1994).- Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in *endothelin-1*. *Nature*. 368: 703-710.
- Le Douarin, N.M.; Ziller, C.; Couly, G.F. (1993).- Patterning of neural crest derivatives in the avian embryo : *in vivo* and *in vitro* studies. *Dev. Biol.* 159: 24-49.
- Le Lièvre, C. (1974).- Rôle des cellules méséctodermiques issues des crêtes neurales céphaliques dans la formation des arcs branchiaux du squelette viscéral. *J. Embryol. Exp. Morph.* 31: 453-477.
- Lee, Y.M.; Osumi-Yamashita, N.; Ninomiya, Y.; Moon, C.K.; Eriksson, U.; Eto, K. (1995).- Retinoic acid stage-dependently alters the migration pattern and identity of hindbrain neural crest cells. *Development*. 121: 825-837.
- Li, C.W.; McPhee, J. (1977).- Influences on the coiling of the cochlea. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 88: 280-287.

- Li, S-W.; Prockop, D.L.; Helminen, H.; Fässler, R.; Lapveteläinen, T.; Kiraly, K.; Peltarri, A.; Arokoski, J.; Lui, H.; Arita, M.; Khillan, J.S. (1995).- Transgenic mice with targeted inactivation of the *Col2a1* gene for collagen II develop a skeleton with membranous and periosteal bone. *Genes Dev.* 9: 2821-2830.
- Lohnes, D.; Mark, M.; Mendelsohn, C.; Dollé, P.; Dierich, A.; Gorry, P.; Gansmuller, A.; Chambon, P. (1994).- Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development. (I) Craniofacial and skeletal abnormalities in RAR double mutants. *Development.* 120: 2723-2747.
- Louryan, S. (1986).- Morphogenèse des osselets de l'oreille moyenne chez l'embryon de souris. I. Aspects morphologiques. *Arch.Biol. (Bruxelles).* 97: 317-337.
- Louryan, S. (1988).- Morphogenèse des osselets de l'oreille moyenne chez l'embryon de souris. II. Etude de la chondrogenèse. *Arch. Biol. (Bruxelles).* 99: 453-463.
- Louryan, S.; Glineur, R.; Tainmont, S.; Vandam, P. (1990).- Tératogénicité de l'acide 13-cis rétinoïque sur les ébauches mandibulo-otiques de l'embryon de souris: approche histologique et histochimique. *Bull. Group. Int. Rech. Sci. Stomatol. Odontol.* 33: 147-153.
- Louryan, S. (1991).- In vitro development of mouse middle ear ossicles: a preliminary report. *Eur. Arch. Biol. (Bruxelles).* 102: 55-58.

- Louryan, S.; Glineur, R.; Dourov, N. (1992).- Induced and genetic mouse middle ear ossicles malformations: a model to human malformative ossicles diseases and a tool for clarifying near normal ontogenesis. Surg. Radiol. Anat. 14: 227-232.
- Louryan, S.; Glineur, R. (1992).- The mouse stapes develops mainly from the Reichert's cartilage independently of the otic capsule. Eur. Arch. Biol. (Bruxelles). 103: 211-212.
- Louryan, S. (1993).- le développement des osselets de l'ouïe chez l'embryon humain: corrélations avec les données recueillies chez la souris. Bull. Ass. Anat. 77: 29-32.
- Lufkin, T.; Dierich, A.; Lemeur, M.; Mark, M.; Chambon, P. (1991).- Disruption of the *Hox-1.6* homeobox gene results in defects in a region corresponding to its rostral domain of expression. Cell. 66: 1105-1119.
- Lumsden, A.; Keynes, R. (1989).- Segmental patterns of neuronal development in the chick hindbrain. Nature. 337: 424-428.
- Lumsden, A.; Sprawson, N.; Graham, A. (1991).- Segmental origin and migration of neural crest cells in the hindbrain region of the chick embryo. Development. 113: 1281-1291.
- Magitot, E.M.; Robin, C.P. (1862).- Mémoires sur un organ transitoire de la vie foetale désigné sous le nom de cartilage de Meckel. Ann. Sci. Natur. 18: 213-241.

- Mallo, M. (1997).- Retinoic acid disturbs mouse middle ear development in a stage specific fashion. *Dev. Biol.* 184: 175-186.
- Mallo, M. (1998).- Embryological and genetic aspects of the middle ear development. *Int. J. Dev. Biol.* 42: 11-22.
- Mallo, M.; Brändlin, I. (1997).- Segmental identity can change independently in the hindbrain and rhombencephalic neural crest. *Dev. Dynamics* 210: 146-156.
- Martin, J.F.; Bradley, A.; Olson, E.N. (1995).- The paired-like homeo box gene *Mhox* is required for early events of skeletogenesis in multiple lineages. *Genes Dev.* 9: 1237-1249.
- Masuda, Y.; Saito, R.; Endo, Y.; Kondo, Y.; Ogura, Y. (1978).- Histological development of the stapes footplate in human embryos. *Acta Med. Okayama.* 32: 109-117.
- Masuda, Y.; So, S.; Naito, M.; Ogura, Y. (1987).- Bilaminar structure of the developing stapedia footplate in the mouse. A histological study using a light microscope. *Auris Nasus Larynx.* 14: 1-7.
- Matamura, M. (1981).- Developmental study on the facial nerve and canal in man. *J. Otolaryngol. Jpn.* 84: 815-825.
- McCorkell, S. (1985).- Fractures of the styloid process and stylohyoid ligament: an uncommon injury. *J. Trauma.* 25: 1010-1012.

- McManus, J.F.A.; Mowry, R.W. (1968).- Técnica histológica. Atika, S.A. Madrid.
- McPhee, J.R.; Van De Water, T.R. (1985).- A comparison of morphological stages and sulfated glycosaminoglycan production during otic capsule formation: In vivo and in vitro. *Anat. Rec.* 213: 566-577.
- Morriss-Kay, G. (1993).- Retinoic acid and craniofacial development: molecules and morphogenesis. *BioEssays.* 15: 9-15.
- Moore, K.L.; Persaud, T.V.N. (1999).- Embriología clínica 6ª ed. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F.
- Noden, D.M. (1983a).- The role of the neural crest in patterning of avian cranial skeletal, connective and muscle tissues. *Dev.Biol.* 96: 144-165.
- Noden, D.M. (1983b).- the embryonic origins of avian craniofacial muscles and associated connective tissues. *Am.J.Anat.* 186: 257-276.
- Noden, D.M. (1984).- The use of chimeras in analyses of craniofacial development. En: *Chimeras in development* (eds. N.M. Le Douarin and A. McLaren). Academic Press. London.pp.241-280.
- Noden, D.M. (1988).- Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme. *Development.* 103: 121-140.
- Novacek, M.J. (1993).- Patterns of diversity in the mammalian skull. En: *The Skull, vol.2* (Eds. J. Hanken and B.K. Hall). University of Chicago Press. Chicago. pp. 438-545.

- O'Rahilly, R.; Müller, F. (1996).- Human embryology and teratology. 2nd ed. Wiley-Liss. New York.
- Orts Llorca, F. (1932).- La arteria estapedial (arteria del estribo) y el segundo arco aórtico. *Crónica Médica de Valencia*. 26: 775: 783.
- Osumi-Yamashita, N. ; Ninomiya, Y.; Doi, H.; Eto, K. (1994).- The contribution of both forebrain and midbrain crest cells to the mesenchyme in the frontonasal mass of mouse embryos. *Dev. Biol.* 164: 409-419.
- Padgett, D.H. (1948).- The development of the cranial arteries in the human embryo. *Carnegie Contrib. Embryol.* 32: 205-261.
- Parker, W.K. (1874).- On the structure and development of the skull in the pig (*Sus Scrofa*). *Phil. Trans. Roy. Soc.* 164: 289-336.
- Poswillo, D. (1973).- The pathogenesis of the first and second branchial arch syndrome. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.* 35: 302-328.
- Poswillo, D. (1975).- The aetiology of the Treacher-Collins syndrome (mandibulo-facial dysostosis). *Br. J. Oral Surg.* 13: 1-26.
- Pratt, R.M.; Goulding, E.H.; Abbott, B.D. (1987).- Retinoic acid inhibits migration of cranial neural crest cells in the cultured mouse embryo. *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.* 7: 205-217.

- Prince, V.; Lumsden, A. (1994).- *Hoxa-2* expression in normal and transposed rhombomeres: independent regulation in the neural tube and neural crest. *Development*. 120: 911-923.
- Putnam, E.A.; Zhang, H.; Ramirez, F.; Milewicz, D.M. (1995).- *Fibrillin-2 (FBN2)* mutations result in the Marfan-like disorder, congenital contractural arachnodactyly. *Nature Genet*. 11: 456-458.
- Qiu, M.; Bulfone, A.; Ghattas, I.; Meneses, J.J.; Christensen, L.; Sharpe, P.T.; Presley, R.; Pedersen, R.A.; Rubenstein, J.L.R. (1997).- Role of the *Dlx* homeobox genes in proximodistal patterning of the branchial arches: mutations of the *Dlx-1*, *Dlx-2* and *Dlx-1* and *-2* alter morphogenesis of proximal skeletal and soft tissue structures derived from the first and second arches. *Dev. Biol*. 185: 165-184.
- Qiu, M.; Bulfone, A.; Martínez, S.; Meneses, J.J.; Shimamura, K.; Pedersen, R.A.; Rubenstein, J.L.R. (1995).- Null mutation of *Dlx-2* results in abnormal morphogenesis of proximal first and second branchial arch derivatives and abnormal differentiation in the forebrain. *Genes Dev*. 9: 2523-2538.
- Rabl, K. (1887).- Über das Gebiet des Nervus facialis. *Anat. Anz*. 2: 219-227.
- Rathke, M.H.R.(1832).- Anatomisch-physiologische Untersuchungen über den Kiemenapparat und das Zungenbein. Riga and Dorpat.

- Reardon, W.; Winter, R.M.; Rutland, P.; Pulleyn, L.J.; Jones, B.M.; Malcolm, S. (1994).- Mutations in the fibroblast growth factor receptor 2 gene cause Crouzon syndrome. *Nature Genet.* 8: 98-103.
- Reagan, J. (1917).- The role of the auditory sensory epithelium in the formation of the stapedial plate. *J. Exp. Zool.* 23: 85-105.
- Reichert, C.B. (1837).- Ueber die Visceralbogen der Wirbelthiere im Allgemeinen und deren Metamorphosen bei den Vögeln und Säugethieren. *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.* 120-220.
- Rijli, F.M.; Mark, M.; Lakkaraju, S.; Dierich, A.; Dolle, P.; Chambon, P. (1993).- A homeotic transformation is generated in the rostral branchial region of the head by disruption of *Hoxa-2*, which acts as a selector gene. *Cell.* 75: 1333-1349.
- Sadler, T.W. (1996).- Langman Embriología médica. 7ª ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Salensky, W. (1880).- Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der knorpeligen Gehörknöchelchen bei Säugethieren. *Morph.Jahrb.* 6: 415-431.
- Schimert, J. (1933).- Zur Entwicklungsgeschichte des Musculus stapedius beim Menschen. *Anat. Anz.* 76: 317-332.
- Schmid, H. (1928).- Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Stapes. *Anat.Anz.* 66: 109-115.

- Schorle, H.; Meier, P.; Buchert, M.; Jaenisch, R.; Mitchell, P.J. (1996).- Transcription factor *AP-2* essential for cranial closure and craniofacial development. *Nature* 381: 235-238.
- Serbedzija, G.N.; Bronner-Fraser; Fraser, S.E. (1992).- Vital dye analysis of cranial neural crest cell migration in the mouse embryo. *Development*. 116: 297-307.
- Siebenmann, F. (1894).- Die ersten Anlagen von Mittelohrraum und Gehörknöchelchen des menschlichen Embryo in der 4. bis 6. Woche. *Arch. Anat. Entwicklungsgesch.* 355-364.
- Siebenmann, H. (1897).- En: *Handbuch der Anatomie des Menschen*, vol.5 (ed. K. Von Bardeleben). VEB Gustav Fischer Verlag. Jena.
- Sperber, G.H. (1989).- *Craniofacial embryology*. 4th ed. Wright. Cambridge.
- Stern, R.S.; Rosa, F.; Baum, C. (1984).- Isoretinoin and pregnancy. *J. Am. Acad. Dermatol.* 10: 851-854.
- Strickland, E.; Hanson, J.R.; Anson, B.J. (1962).- Branchial sources of auditory ossicles in man. Part I. Literature. *Arch. Otolaryng.* 76: 100-122.
- Sulik, K.K.; Johnston, M.C.; Smiley, S.J.; Speigh, H.S.; Jarvis, B.E. (1987).- Mandibulo-facial dysostosis (Treacher Collins syndrome): a new proposal for its pathogenesis. *Am. J. Med. Gen.* 27: 359-372.

- Takeda, Y.; Nishizaki, K.; Masuda, Y.; Watanabe, S. (1996).- Middle ear anomalies induced by hypertriazene administration in the mouse. *Auris Nasus Larynx*. 23: 1-12.
- Tamura, K.; Nishizaki, K.; Takeda, Y.; Sumida, S.; Masuda, Y. (1993).- Suspension organ culture of the fetal mouse ear. *Auris Nasus Larynx*. 20: 239-246.
- Thesleff, I.; Vaahtokari, A.; Partanen, A.M. (1995).- Regulation of organogenesis. Common molecular mechanisms regulating the development of teeth and other organs. *Int. J. Dev. Biol.* 39: 35-50.
- Treacher Collins Syndrome Collaborative Group (1996).- Positional cloning of a gene involved in the pathogenesis of Treacher Collins syndrome. *Nature Genet.* 12: 130-136.
- Valentin, G.G. (1835).- *Handbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen*. August Ruecker. Berlin.p.213.
- Van De Water, T.R. (1987).- Determinants of otic capsule formation. *Laryngoscope*. 97: 315-322.
- Van De Water, T.R.; Maderson, P.F.A.; Jaskoll, T.F. (1980).- The morphogenesis of the middle and external ear. *Birth defects: original articles series*. 16: 147-180.
- Von Noorden, W. (1887).- Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen. *Arch. Mikr. Anat.* 44: 499-509.

- Wagner, T.; Wirth, J.; Meyer, J.; Zabel, B.; Held, M.; Zimmer, J.; Pasantes, J.; Bricarelli, F.D.; Keutel, J.; Hustert, E.; Wolf, U.; Tommerup, N.; Schempp, W.; Scherer, G. (1994).- Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene *SOX9*. *Cell*. 79: 1111-1120.
- Webster, W.S.; Johnston, M.C.; Lammer, E.J.; Sulik, K.K. (1986).- Isotretinoin embryopathy and the cranial neural crest: an in vivo and in vitro study. *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.* 6: 211-222.
- Zhang, J.; Hagopian-Donaldson, S.; Serbedzija, G.; Elsemore, J.; Plehn-Dujowich, D.; McMahon, A.P.; Flavell, R.A.; Williams, T. (1996).- Neural tube, skeletal and body wall defects in mice lacking transcription factor *AP-2*. *Nature* 381: 238-241.
- Zondek, M. (1894).- Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen. *Arch. Mikr. Anat.* 44: 499-509.